

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS**

**TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS EM CÉLULAS A
COMBUSTÍVEL MICROBIANAS E GERAÇÃO DE ENERGIA
ELÉTRICA DIRETA: FUNDAMENTOS E APLICAÇÃO**

Doutorando: Msc. Eduardo Dellosso Penteadó

Orientador: Prof. Titular Ernesto Rafael Gonzalez

Versão Corrigida

São Carlos

Abril de 2016

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS

**TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS EM CÉLULAS A
COMBUSTÍVEL MICROBIANAS E GERAÇÃO DE ENERGIA
ELÉTRICA DIRETA: FUNDAMENTOS E APLICAÇÃO**

Tese apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos, da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título em Doutor em Ciências: Engenharia Hidráulica e Saneamento.

Doutorando: Msc. Eduardo Delosso Penteadó

Orientador: Prof. Titular Ernesto Rafael Gonzalez

Versão Corrigida

São Carlos

Abril de 2016

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

P419t Penteado, Eduardo Delloso
Tratamento de águas residuárias em células a combustível microbiana e geração de energia elétrica direta: Fundamentos e Aplicação / Eduardo Delloso Penteado; orientador Ernesto Rafael Gonzalez. São Carlos, 2016.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação e Área de Concentração em Hidráulica e Saneamento -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2016.

1. Bioenergia. 2. Sistemas bioeletroquímicos. 3. Microrganismos Bioeletrogênicos. 4. Célula a Combustível Microbiana. 5. Tempo de detenção hidráulica. 6. Temperatura. 7. Eletrodo. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato: Engenheiro **EDUARDO DELLOSSO PENTEADO**.

Título da tese: "Tratamento de águas residuárias em células a combustível microbianas e geração de energia elétrica direta: fundamentos e aplicação".

Data da defesa: 08/04/2016

Comissão Julgadora:

Resultado:

Prof. Titular **Ernesto Rafael Gonzalez (Orientador)**
(Instituto de Química de São Carlos/IQSC)

Aprovado

Prof. Titular **Eugenio Foresti**
(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)

Aprovado

Prof. Dr. **José Joaquim Linares León**
(Universidade de Brasília/UnB)

APROVADO

Profa. Dra. **Valeria Reginatto Spiller**
(Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto/FFCLRP-USP)

APROVADO

Prof. Dr. **Marcelo Loureiro Garcia**
(Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"/UNESP – Rio Claro)

APROVADO

Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento:

Profa. Associada **Maria Bernadete A. Varesche Silva**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:
Prof. Associado **Paulo César Lima Segantine**

DEDICATÓRIA

À minha família que com carinho, amor e incansável apoio me ajudaram durante esta etapa.

AGRADECIMENTOS

Gratidão substantivo feminino que significa o reconhecimento de uma pessoa por alguém que lhe prestou uma valiosa colaboração, um grande auxílio na realização das meras atividades cotidianas e/ou na superação de desafios. Ninguém atinge os louros por merecimentos próprios, mas sim por méritos compartilhados com outros – que são verdadeiros amigos. Por isso, neste momento quero registrar meus sinceros agradecimentos às várias pessoas que me ajudaram a concluir esta etapa na minha vida.

Como cristão quero, primeiramente, agradecer a Deus que deu origem ao universo que nos cerca e nos deu a racionalidade, a curiosidade e a persistência para não desanimar mesmo em momentos traiçoeiros. Agradeço, também, a Nossa Senhora de Fátima, minha protetora e intercessora por me proteger e guiar-me, em todos os momentos de dificuldades.

A meus pais, Rosângela e Dirceu, que são e sempre serão presenças constantes em minha vida sem os quais jamais teria iniciado e completado esta longa jornada. Obrigado por todo o ensinamento transmitido, pelo amor incondicional, pela serenidade e palavras de sabedoria nos momentos de indecisão e por sempre terem confiado e me apoiado em diversas decisões em minha vida. Agradeço e reconheço os esforços e sacrifícios pessoais que vocês fizeram para me proporcionar o melhor. Orgulho de ser filho de vocês!

Ao meu irmão, Lucas, pelo exemplo de confiança, coragem e determinação. Obrigado pelo apoio e incentivo para que tudo isso fosse possível e entender as idas ao laboratório aos finais de semana. É uma honra ser seu irmão!

A minha avó Noélia por todo apoio, carinho, oração e sempre se preocupar com a “educação dos meus bichinhos, como ela mesmo falava”. Sempre que perguntava como os *bichinhos* estavam e respondia que não estavam muito bem, ela abria um sorriso e falava que bateria neles para que me obedecessem para que tudo desse certo. Te adoro vó!

A todos meus familiares, em especial aos tios avós Alice, Clarisse e Albino, aos tios Tê e Mario, Inês e Cláudio por sempre se interessarem pelo meu trabalho dando apoio e incentivo. Aos primos e primas pelo apoio, consolo, e incansáveis conversas. À tia avó Tita (em memória) e aos avós falecidos Isaura, Tertuliano e João.

Aos familiares que a vida cria: Marcos Santana, Regina e a “irmã” Clarissa que são uma segunda família, sempre me ajudaram nas ausências dos meus pais e são exemplos na vida pessoal e profissional. Aos equipistas, atuais e os que já foram, da Equipe (15) de Nossa Senhora pelas orações e pedidos que Deus ilumine o meu caminho.

Ao Prof. Emérito Ernesto Rafael Gonzalez, meu orientador, por ser um grande exemplo profissional, um dos cinco maiores cientistas no Brasil. Agradeço-o pela oportunidade, apoio, dedicação, confiança e orientação durante a realização deste trabalho. Por ter me permitido a ingressar neste intrigante e fascinante mundo da bioeletroquímica.

Ao Prof. Marcelo Zaiat, pela sua coorientação, por estar sempre disposto a compartilhar seu conhecimento e experiência dando abertura à discussão, um exemplo de pesquisador e educador. Por todos os valiosos conselhos que me presenteou e que me ajudarão durante a minha vida pessoal e profissional.

Ao Prof. Catedrático Manuel Andre Rodrigo da Universidad de Castilla-La Mancha (Ciudad Real, Espanha), carinhosamente chamado de Manolo, a personificação da eficiência e da prestatividade, por ter aberto seu laboratório para que pudesse realizar um estágio de pesquisa, pela acalorada acolhida, por sua orientação e motivação.

À Prof. Dr^a. Ileana Pereda Reyes do Instituto Superior Politécnico José Antonio Echeverría por me receber e me orientar durante a minha estadia em Cuba.

Aos professores do Laboratório de Processos Biológicos, Prof^a. Maria Bernadete Varesche, Prof. Wyclief Dimurgo Marra Junior, Prof^a Márcia Damianovic pelas sugestões produtivas e pelo convívio agradável e divertido durante a minha permanência no Laboratório de Processos Biológicos. Em especial quero agradecer ao Prof. Eugênio Foresti, o “*chefe*” do grupo de pesquisa, pela ajuda para acesso aos artigos da *Water Science Technology*, pelo exemplo de vida profissional e pessoal, pelas risadas e conselhos compartilhados durante todos esses anos.

Aos professores do Departamento de Ingeniería Química da Universidad de Castilla-La Mancha (DIQ-UCLM, Ciudad Real, Espanha), Prof^a Carmen Maria Fernandez-Marchante, Prof Justo Lobato e Prof Pablo Cañizares pela atenção e supervisão durante o estágio de pesquisa, pelas discussões científicas e participações efetivas neste trabalho.

Aos professores do Centro de Estudio de Ingeniería de Procesos –Havana - Cuba, Miguel, Carlos, Justo Perez e Susana que com toda a simplicidade e criatividade buscam desenvolver a pesquisa científica em um país em que há poucos recursos.

Às técnicas do Laboratório de Processos Biológicos, Dr^a Carolina Sabatini, Dr^a Eloisa Pozzi Gianotti, Dr^a Isabel Kimiko Sakamoto, Dr^a Maria Angela Tallarico Adorno, pela ajuda nas preparações de soluções, análises e compreensão dos resultados e, também, pelos deliciosos cafés gourmets durante os expedientes.

Ao técnico do grupo de Eletroquímica do Instituto de Química de São Carlos, Dr. Valdecir Pagini, pela ajuda na confecção dos eletrodos, da célula combustível e no ensino das técnicas de análise eletroquímicas.

Às técnicas dos laboratórios do exterior, onde parte deste trabalho foi desenvolvido, Beatriz Guerra Alvarez e Maria Concécption Cabanza (Conci) pelo auxílio nas análises físico-químicas e por sempre me ajudarem quando a saudade de casa e a tristeza batia e eu ficava “para baixo”.

À Priscila Camiloti, um exemplo de perseverança! Conhecemo-nos no primeiro dia de aula do mestrado e depois foi uma amizade sincera e verdadeira. Agradeço por toda a ajuda, força e palavras de carinho que me deu desde o tempo do mestrado e durante essa montanha russa que se chama doutorado.

Ao Djalma e Adriana Maluf, seus “*bunitos*”. Obrigado por toda ajuda no crescimento profissional e vejo o quanto isto é consequência da vivência com vocês no laboratório. Também gostaria de agradecer a compreensão, a força durante esta minha etapa de vida de crescimento científico, e pelos bons momentos compartilhados seja no laboratório às 3 da manhã, na padaria, na viagem para buscar inóculo ou vinhaça e pela companhia no congresso de hidrogênio. A sintonia entre vocês, a Priscila e eu é tão grande que nós não precisávamos falar, mas já sabíamos o que cada um estava pensando, apenas pelo olhar. É isso mesmo seus “*bunitos*”!!.

Ao Tiago Paladino, um dos “novos biólogos”. Agradeço pela vivência, pelas cervejas e pizzas. Também, não menos importante, pela ajuda na compilação dos dados do sequenciamento massivo dos microrganismos, pela busca de uma abordagem com visão mais voltada à área da engenharia e prática da função dos microrganismos do que uma descritiva pura.

Aos compadres Leandro e Natália. Vocês são irmãos que a vida cria e eterniza. Sou grato por toda ajuda e apoio nas mais difíceis decisões tomadas, sempre os consultava para uma opinião. Mesmos nos momentos difíceis sempre tinham uma palavra confortadora. Muito obrigado meus irmãos!

Quero agradecer aos “panquecados”, Lucas, Isabella, Carol Gil, Carla, Rachel e Fabricio pelos *happy hours* regados de boa comida e bom papo. Vocês foram importantes ouvintes das crises existenciais e das euforias de alegrias que esta gangorra do doutoramento provoca nas pessoas.

Ao Thiago do IQSC e ao Tiago Martins pela discussão científica, pela busca para entender os mistérios reportados nos artigos publicados na literatura e pelas comidas, cervejas

e vinhos provados entre um experimento e outro. Vocês também foram essenciais para que pudesse ter uma vida saudável no laboratório e para que não fizesse uma tempestade em um pequeno copo de água.

Ao grupo do nitrogênio, Rafael, Bruna Moraes, Dagoberto e Theo pelas risadas e pela ajuda durante as análises, pelos ensinamentos nas conversas de café e pela companhia durante o congresso AD no Chile.

Ao grupo dos antibióticos, Paulo Clairmont, Inês e Guilherme Oliveira, pela ajuda na compreensão das análises cromatográficas, pelos deliciosos quitutes mineiros oferecidos nos cafés das 10 e das 16 horas e pelas risadas nas redes sociais.

Ao grupo de bioenergia, a Mélida Del Pilar, a Simone, a Tatiana Mañunga, a Carol Zampol, a Livia e a Vivian, pelo apoio e ajuda no desenvolvimento deste projeto de pesquisa, pelas risadas entre uma DQO e outra e durante as faxinas na sala de reatores.

A todos os demais membros da família do Laboratório de Processos Biológicos da EESC-USP: Alana, Bruno (Giz), Bruno (Bomba), Bruna Gomes, Beatriz, Cristiane, Daniel, Danilo, Davi, Débora, Fabrício, Filipe, Fiaz, Flávia, Gabriel, Guilherme (Din), Guilherme Vuitik, Gustavo, Inaê, Jéssica, Juliana, Laís, Luma, Kiemi, Marcus Vinícius, Mara Rubia, Mariana, Matheus, Mirian, Moacir, Rafael Damiano, Regiane Correa, Regiane Ratti, Ricardo, Rodrigo Carneiro, Rodrigo Longo, Sami, Sarah, Thaís, Tainá, Tiago (Cebola), Thadeu e Vanessa. Trabalhar neste laboratório foi a melhor experiência da minha vida com vários aprendizados. Num lugar com mais de 70 funcionários das mais diferentes formações: biólogos, químicos, engenheiros, farmacêuticos, gestores ambientais, ecólogos, sempre há algo novo para se apreender.

Aos amigos de profissão que trilharam os mais diferentes caminhos no grande campo que é a Engenharia Ambiental e que nos conhecemos durante a organização da Semana de Engenharia Ambiental de 2007, Davi Gasparini, Guilherme (Ituverava), Fernanda Ramaglia, Gabriel Sacchi, Juliana Resende, Lucas Simão, Henrique Altero (Muringa), pelas alegrias de assistir um futebol e devorar uma boa pizza às quartas-feiras. Muito obrigado pelo apoio para não desistir desta empreitada. Vocês são irmãos para sempre!

Ao pessoal da graduação, carinhosamente chamada de *Amb3turma*, Amanda, André, Andréia, Artur, Bruno (Resto), Caio (Marielza), Cláudia, Dante, Diego, Heider (Chapinha), Hudson, Jaqueline, Juliana, Maíra, Marcus Vinicius (Glau, Tiozão), Mariana, Nataska, Natália Fischer, Patrick, Priscila Marconi, Renata Amaral, Thiago e Thays. Em fevereiro de 2005, nos conhecemos no primeiro dia de faculdade e formamos uma verdadeira família que sempre se encontra pelo menos uma vez por ano para matar a saudade. Agradeço ao apoio, as

palavras de carinho e este trabalho também é um pouco de vocês. O sucesso de um é o sucesso de todos e com este comprometimento nós estamos dominando o mundo!

Aos profissionais do prédio da Engenharia Ambiental, a técnica de laboratório Juliana, ao técnico de informática Fernando e a secretária Silvana na ajuda para buscar reagentes, resolver problemas de computador e de infraestrutura. Pelo seu Antônio e a dona Rosa, recebam meus agradecimentos todo o pessoal da segurança e da limpeza do laboratório.

Aos amigos cubanos que me ajudaram durante a realização do estágio, Ania, Juliet, Jaime, Katia, Jhosane, Yanet e Tânia, agradeço pelas palavras de carinho quando a falta da família batia. Registro aqui a minha admiração pela criatividade que vocês têm para sair dos momentos de adversidade que reinam em Cuba. Dentre os amigos cubanos quero agradecer de maneira especial à família que abriu as portas da sua casa para mim e que me ajudou a viver como “meio cubano”, a Gladys, Aimeé, Eliot e a pequena e agora moça Sofia pelas intermináveis partidas de mico e dominó.

Aos amigos brasileiros e argentinos feitos durante a realização do estágio de pesquisa em Ciudad Real (Espanha) Flávio, Maurício, Natália, Griselda e Iasnaia. De maneira especial a duas brasileiras que trabalham com eletroquímica ambiental, Dr^a. Fernanda Souza e Dr^a. Elisama Vieira, sem vocês essa experiência não teria sido tão agradável. Obrigado a vocês pelos almoços de domingos com muitas comidas sofisticadas e saudáveis sobremesas fornecidas pelo Mercadona e, claro, pelo apoio e conforto quando a saudade da família batia.

Aos amigos espanhóis do laboratório de tecnologia de membranas aplicado ao meio ambiente, pela amizade e carinho com que me receberam e trataram-me durante os dez meses que estive junto de vocês. A Salvador Cotillas (Salva) por toda a sua dedicação e ajuda para conseguir um lugar para me instalar durante a minha estada e nas tarefas rotineiras do laboratório. Ao Hector e Jorge pelos momentos de descontração entre uma análise e outra, e mais um aviso a vocês: acidentes acontecem e um dia vocês ainda explodem o laboratório por causa deste hidrogênio. Imaculada, Esperanza, Alexandra, Sandra, Silvia e Maria José (MJ) pelo convívio e risadas durante os momentos de café (desayuno), as longas caminhadas até o cinema e as ceias de teses. Aos companheiros, José Fernando e Iciar, pelas loucas aventuras aos sábados e por me mostrarem mais da terra de Don Quijote de La Mancha. A Yeray, Sara e a italiana Adriana pela ajuda no famoso mundo das biocélulas e no fantástico mundo do MALDI-ToF (*Matrix Associated Laser Desorption-Ionization – Time of Flight*, Ionização e dessorção a laser assistida por matriz em espectrômetro de massas) e se querem um conselho - as células à combustível microbiana são algo mágico, mas às vezes ela nos apronta algumas surpresas, mas não fiquem com raiva! As biocélulas nos amam! Não poderia me esquecer do

peçoal do laboratório de catálise, Nuria, Javi, Cano, Maria José, Cristina Gutierrez e Ana Belen, pelas descontraídas conversa do café e pela ajuda para encontrar o que precisava para os experimentos, vocês foram muito importantes para este trabalho e por isso merecem estar aqui. De maneira geral, vocês todos independente de qual laboratório, são todos especiais e tenho saudades de cada um. Fui para a Espanha com medo do que encontraria e não esperava achar pessoas tão maravilhosas! Me desculpem, se esqueci de alguém mas é que a emoção veio à tona!

À Cristiane Bellazalma pelos conselhos que me fizeram crescer evoluir muito. Obrigado por tudo!!

À Maria Auxiliadora (Sá), Priscila, Fernanda e Flávia (as meninas da contabilidade), a Rose, que mesmo no campus 1 ajudaram na “papelada” necessária para a realização deste projeto.

À Escola de Engenharia de São Carlos e ao Departamento de Hidráulica e Saneamento por permitir a execução deste projeto.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas bolsas de doutorado e de estágio no exterior concedidas (processo FAPESP 2011/23026-0 e 2014/07904-5) e pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa (processo FAPESP nº 2009/15984-0,).

À CAPES e ao Ministério de Ensino Superior de Cuba pelo apoio financeiro ao projeto *Tratamento de águas residuárias de alta carga orgânica com o uso de materiais suporte naturais em sistemas anaeróbios de terceira geração para reduzir a contaminação ambiental*.

À União Europeia e ao Governo da Espanha pelo apoio financeiro por meio do projeto EXPLORA do contrato CTQ2013-49748-EXP.

Ao Laboratório Multiusuário Centralizado Genômica Funcional Aplicada à Agropecuária e Agroenergia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”-ESALQ/USP (Piracicaba – São Paulo), pelo sequenciamento por meio da plataforma Miseq – Illumina.

A todos que, por acaso, eu tenha esquecido de mencionar. Não é uma simples menção em um papel que irá tirar a importância de toda ajuda que recebi durante esse caminho percorrido.

RESUMO

PENTEADO, E.D. **Tratamento de águas residuárias em células a combustível microbianas e geração de energia elétrica direta: fundamentos e aplicação.** Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos – Universidade de São Paulo.

Neste trabalho avaliou-se a influência das condições operacionais da célula a combustível microbiana (CCM) na remoção de matéria orgânica de águas residuárias e na geração de energia elétrica direta. As **Hipóteses 1, 2 e 3** verificaram respectivamente as influências do **tempo de detenção hidráulica (TDH)**, das condições **mesofílica** (25 °C) e **termofílica** (55 °C) de temperatura e da **razão de recirculação (R)** do efluente no cátodo da CCM (0, 1, 3 e 5) na geração de energia elétrica, na adesão e na comunidade microbiana e na remoção de DQO em CCM sem membrana de íon seletiva alimentada com água residuária sintética a base de sacarose. **As Hipóteses 1, 2 e 3 foram aceitas.** A redução do TDH permitiu maior geração de energia e dominância na comunidade microbiana e menor adesão da comunidade microbiana ao eletrodo. Enquanto que longos TDH removeram mais DQO, porém geraram menores valores de tensão elétrica. As condições termofílicas apresentaram maiores valores de tensão elétrica gerada e maior dominância da comunidade microbiana e menor adesão microbiana ao eletrodo e eficiência de remoção de DQO. A constante cinética aparente em condição termofílica ($0,035 \text{ h}^{-1}$) foi duas vezes menor que em condição mesofílica ($0,083 \text{ h}^{-1}$). O aumento da R melhorou a geração de energia e a remoção de DQO, pois houve melhor transferência de massa do meio líquido para os microrganismos e do meio gasoso para líquido e menor concentração de biomassa aderida ao eletrodo do cátodo aumentando a tensão elétrica gerada. Na **Hipótese 4**, verificou-se o uso e o efeito do TDH no **tratamento de vinhaça de cana de açúcar** em CCM sem membrana trocadora de íon seletivo operada em condição termofílica. A CCM foi capaz de remover a matéria orgânica da vinhaça de cana de açúcar e gerar energia elétrica direta, **validando a Hipótese 4.** **As hipóteses 5, 6 e 7** avaliaram as influências **da relação DQO, nitrogênio e fósforo** da água residuária de produção de vinho, **do tempo de retenção celular (TRC)** e da **configuração do eletrodo** no desempenho de CCM de duas câmaras usando membrana de íon seletivo. **Acataram-se as hipóteses 5, 6 e 7.** O desbalanceamento entre DQO, nitrogênio e fósforo da água residuária de produção de vinho é um dos principais obstáculos para o uso desta tecnologia e a relação de DQO:N:P de 700:10:1 tem elevado potencial para gerar energia elétrica direta em CCM, embora não seja eficiente na remoção de matéria orgânica. A geração de energia aumenta com a redução do TRC, visto que há seleção dos microrganismos eletrogênicos e aumento da carga orgânica volumétrica específica reduzindo a competição por substrato. Entretanto, o TRC não influenciou a remoção de matéria orgânica, pois somente uma pequena parte da DQO foi removida similar em todos os TRC. As características físicas do eletrodo como a porosidade, a rugosidade e a densidade de área do eletrodo e a biocompatibilidade do eletrodo são fatores determinantes para aumentar o desempenho da CCM. Entre os eletrodos estudados, o feltro de carbono foi o melhor material encontrado.

Palavras chave: Bioenergia; sistemas bioeletroquímicos; microrganismos bioeletrogênicos; CCM de duas câmaras; CCM de câmara única.

ABSTRACT

PENTEADO, E.D. **Wastewater treatment in microbial fuel cell and direct electrical Power generation: Fundamentals and Application.** Thesis (Ph.D Diplom). São Carlos School of Engineering – University of São Paulo.

In this work the influence of the operational conditions of the microbial fuel cell (MFC) were evaluated in organic matter removal from wastewater treatment and in the power generation. **Hypotheses 1, 2 and 3** respectively checked the influences of **hydraulic retention time (HRT)**, of **mesophilic and thermophilic conditions** (25 °C and 55 °C, respectively) and the **recirculation ratio (R)** of the effluent in cathode of MFC (0, 1, 3 and 5) in the power generation, microbial adhesion and community and COD removal of membraneless MFC fed with synthetic wastewater based on sucrose. **Hypotheses 1, 2 and 3 have been accepted.** Reducing the HRT increased the power generation and the dominance in microbial community and decreased the COD removal efficiency and microbial adhesion to the electrode. Long HRT more efficiently removed the organic matter but generated lower voltages. The thermophilic conditions yielded a more dominant microbial community that favored power generation compared with the mesophilic conditions because of reduced microbial adhesion to the electrode. The COD removal efficiencies were higher under mesophilic conditions than under thermophilic conditions due to the higher apparent kinetic constant at mesophilic conditions (0.083 h⁻¹) than in thermophilic conditions (0.035 h⁻¹). Increasing the R improved the power generation and the COD removal, because the mass transfer in the liquid medium for microorganisms was improved and the biomass adhered to the cathode electrode decreased increasing the voltage. In **Hypothesis 4**, the use and effect of HRT in **treating sugar cane vinasse** in membraneless MFC operated at thermophilic conditions were evaluated. The CCM was able to remove the COD of sugarcane vinasse and generate electricity directly, **confirming the hypothesis 4.** **Hypotheses 5, 6 and 7** assessed the influences of **COD, nitrogen and phosphorus ratio** in winery wastewater, of **sludge retention time (SRT)** and of **electrode configuration** in dual chamber MFC. **Hypotheses 5, 6 and 7 were adopted.** The misbalance between COD, nitrogen and phosphorus from winery wastewater is a major obstacle to the use of this technology and COD: N: P ratio of 700: 10: 1 had high potential to generate power in MFC, although it is not effective in removing organic matter. The power generation increases with the reduction of the SRT, since there were the selection of bioelectrogenic microorganisms and increased the volumetric organic load rate reducing competition for substrate. However, the SRT did not affect the removal of organic matter, because only a small part of COD was removed regardless of SRT. Physical characteristics of the electrode as porosity, roughness and the electrode area density and the biocompatibility of the electrode are key factors to increase the performance of CCM. The carbon felt was the best studied material having the highest values of porosity, roughness and the electrode area density.

Keywords: Bioenergy; Bioelectrochemical system; bioelectrogenic microorganism, dual chamber MFC, single chamber MFC

Lista de Figuras

Figura 1.1: Evolução do consumo de energia derivada de combustíveis fósseis desde 1900 até 2010: gás natural (■), petróleo (■) e carvão (■).....	3
Figura 1.2: Distribuição por tipo de fonte do consumo mundial de energia primária no ano de 2011.....	4
Figura 2.1: Esquema de uma célula a combustível microbiana (CCM) de duas câmaras com membrana trocadora de prótons.	9
Figura 2.2: Esquema da conversão de matéria orgânica complexa na redução do ânodo de CCM para geração de energia elétrica.	11
Figura 2.3: Esquema da conversão de matéria orgânica complexa na digestão anaeróbia pela metanogêneses realizadas pelas arqueias metanogênicas (A) e pela sulfetogênese realizadas pelas bactérias redutoras de sulfato (B).	14
Figura 2.4: Esquema da transferência direta de elétrons do microrganismo para o eletrodo do ânodo por meio de citocromos.	15
Figura 2.5: Esquema da transferência direta de elétrons do microrganismo para o eletrodo do ânodo por meio de nanofios eletroquimicamente ativos.....	16
Figura 2.6: Esquema da transferência indireta de elétrons do microrganismo para o eletrodo do ânodo por meio de mediadores redox endogênicos, ou por metabólitos secundário. Duas vias possíveis para os mecanismos do processo redox: por citocromo da membrana celular e por via periplasmática.....	18
Figura 2.7: Esquema da transferência indireta de elétrons do microrganismo para o eletrodo do ânodo por meio de metabólitos primários: via acceptor de elétrons usado na digestão anaeróbia, como o sulfato que é reduzido a sulfeto e pode ser oxidado a sulfato ou enxofre elementar em contato com a superfície do eletrodo do ânodo; e via produtos da digestão anaeróbia que são reduzidos na superfície do eletrodo.....	19
Figura 2.8: Esquema de uma célula a combustível microbiana (CCM) de câmara única com membrana de íons seletivo.	20
Figura 2.9: Fotografias dos materiais de eletrodo com base de carbono mais usados em CCM: papel de carbono (A), placa de grafite (B), tecido de carbono (C), feltro de carbono (D), carbono vítreo reticulado (RVC, E) e escova de carbono (F).	26
Figura 4.1: Esquema (A) e foto (B) da célula a combustível microbiana (CCM) usada.....	35

Figura 4.2: Tecido de carbono usado como eletrodo e material suporte da CCM no cátodo com espaçamento de 0,5 cm entre os discos (A) e no ânodo com espaçamento de 2,0 cm entre os discos (B).....	36
Figura 4.3: Variação temporal da concentração da matéria orgânica efluente (DQO_{efluente}) em condições mesofílicas (25°C, A) e termofílica (55°C, B) em diferentes TDH: 2 (◆), 4 (□), 8 (▲) e 24 (○) h.	44
Figura 4.4: Variação temporal da eficiência de remoção da matéria orgânica (ξ_{DQO}) em condições mesofílicas (25°C, A) e termofílica (55°C, B) em diferentes TDH: 2 (◆), 4 (□), 8 (▲) e 24 (○) h.	45
Figura 4.5: Curva da relação da DQO efluente no estado estacionário e do TDH da CCM e a expressão cinética de remoção de DQO no estado estacionário em condições mesofílicas (25°C, ■) e termofílicas (55°C, ○).	46
Figura 4.6: Variação temporal da tensão elétrica gerada pela CCM (U) operada em condições mesofílicas (25°C, A) e termofílica (55°C, B) e em diferentes TDH estudados: 2 (◆), 4 (□), 8 (▲) e 24 (○) h.	47
Figura 4.7: Variação da eficiência média de remoção de DQO (ξ_{DQO}) no estado estacionário (Steady State) e da tensão elétrica media gerada em condições mesofílicas (25°C, ■) e termofílicas (55°C, ○) nos diferentes TDH estudados.	49
Figura 4.8: Variação temporal da eficiência Coulombica (EC) obtida pela CCM operada em condições mesofílicas (25°C, A) e termofílica (55°C, B) e em diferentes TDH estudados: 2 (◆), 4 (□), 8 (▲) e 24 (○) h.	51
Figura 4.9: Variação temporal da concentração de biomassa aderida no ânodo e no cátodo em condições mesofílicas (25 °C, A e B) e termofílicas (55 °C, C e D nos diferentes TDH estudados: 2 (◆), 4 (□), 8 (▲) e 24 (○) h.	53
Figura 4.10: Análise dos dendogramas mostrando a influência das condições mesofílica (M) e termofílica (T) e do TDH (4, 8 e 24 h) na comunidade microbiana do ânodo (AN, A) e no cátodo (CA, B).	56
Figura 4.11: Curvas de rarefação com os dados normalizados e OTU a 97 % de similaridade para sequenciamento massivo das amostras do ânodo e do cátodo da CCM operada em condição mesofílica e termofílica com TDH de 4 horas: MC4, TC4, MA4 e TA4.	60
Figura 4.12: Dendograma baseado no índice de Bray-Curtis para as amostras do ânodo e do cátodo da CCM operada em condição mesofílica e termofílica com TDH de 4 horas para 1000 repetições. Nos nós há porcentagem de geração de cada ramo.	61

- Figura 4.13: Distribuição da abundância relativa de filos e diferença de proporção nas amostras do ânodo e do cátodo da CCM operada em condição mesofílica e termofílica com TDH de 4 horas (A) e a diferença de proporções das populações entre os cátodos mesofílico e termofílico (B) e entre os ânodos mesofílico e termofílico (C)..... 62
- Figura 4.14: Diagrama de Venn da presença e ausência de gênero para as amostras do ânodo (A) e do cátodo (C) da CCM operada em condição mesofílica (M) e termofílica (T) com TDH de 4 horas. 63
- Figura 4.15: Distribuição da abundância relativa de gêneros nas amostras do ânodo e do cátodo da CCM operada em condição mesofílica e termofílica com TDH de 4 horas... 64
- Figura 4.16: Diferença de proporções das populações entre os cátodos mesofílico e termofílico (A) e entre os ânodos mesofílico e termofílico (B). 65
- Figura 4.17: Mecanismos de transferência de elétrons sugerido pelos gêneros mais abundantes nas CCM mesofílica (A) e termofílica (B)..... 67
- Figura 5.1: Esquema do aparato experimental usado para avaliar a influência da razão de recirculação do efluente no cátodo da célula a combustível microbiana (CCM). 72
- Figura 5.2: Variação temporal da concentração da material orgânica efluente (DQO_{efluente}) em condições mesofílicas (25°C, A) e termofílica (55°C, B) em diferentes razões de recirculação estudadas: 0 (◆), 1 (□), 3 (▲) e 5 (○)..... 74
- Figura 5.3: Variação temporal da eficiência de remoção da matéria orgânica (ξ_{DQO}) em condições mesofílicas (25°C, A) e termofílica (55°C, B) em em diferentes razões de recirculação estudadas: 0 (◆), 1 (□), 3 (▲) e 5 (○) 75
- Figura 5.4: Variação temporal da tensão elétrica (U) em condições mesofílicas (25 °C, A) e termofílicas (55 °C, B) para diferentes razões de recirculação no compartimento catódico: 0 (◆), 1 (□), 3 (▲) e 5 (○). 77
- Figura 5.5: Relação entre a tensão elétrica média (U) e a razão de recirculação (R) no cátodo da CCM sem membrana trocadora de prótons em condições mesofílicas (Δ e tendência -) e termofílicas (▲ e tendência —). 79
- Figura 5.6: Concentração de biomassa aderida (B.A) no ânodo (□) e cátodo (■) em condições mesofílicas (25 °C, A) e termofílicas (55 °C, B) para diferentes razões de recirculação no compartimento catódico: 0, 1, 3 e 5. 80
- Figura 5.7: Variação temporal da eficiência Coulombica (EC) obtida pela CCM operada em condições mesofílicas (25°C, A) e termofílicas (55°C, B) e em diferentes razões de recirculação no cátodo estudados: 0 (◆), 1 (□), 3 (▲) e 5 (○)..... 81

- Figura 6.1: Variação temporal da tensão elétrica gerada (U) nas CCM operadas em condições termofílicas, alimentadas com vinhaça de cana-de-açúcar e com TDH de 8 (■,) e 24 (□) h..... 87
- Figura 6.2: Variação temporal da condutividade nas CCM operadas com TDH de 8 (A) e 24 horas (B) nos ânodos (□) e cátodos (■)..... 89
- Figura 6.3: Variação temporal da concentração de matéria orgânica nas CCM alimentadas com vinha de cana-de-açúcar com TDH de 8 (A) e 24 (B) h: afluente (■), efluente do ânodo (○) e do cátodo (●). 90
- Figura 6.4: Comparação dos valores médios de eficiência de remoção de matéria orgânica no ânodo (■) no cátodo (□) e global do sistema (■) com CCM operada em condições termofílicas usando vinhaça de cana-de-açúcar como combustível e TDH de 8 e 24 horas. 92
- Figura 6.5: Comparação da concentração de biomassa aderida (B. A.) ao ânodo (■) e ao cátodo (□) nas CCM operadas em condições termofílicas, alimentadas com vinhaça de cana-de-açúcar e TDH de 8 e 24 h. 93
- Figura 6.6: Perfil temporal da Eficiência Coulombica para CCM sem membrana trocadora de prótons alimentada com vinhaça e operada em condições termofílicas e com TDH de 8 (■) e 24 (□) horas. 94
- Figura 7.1: Esquema do sistema da célula a combustível microbiana de duas câmara usada no tratamento de água residuária de produção de vinho. 98
- Figura 7.2: Variação temporal da concentração de DQO antes (Δ) e depois (\blacktriangle) de cada ciclo diário de alimentação e a taxa de consumo de DQO (■) durante a operação da CCM usando como combustível água residuária de produção de vinho. 101
- Figura 7.3: Variação temporal da concentração de fósforo (A) e nitrogênio (B) antes (□) e depois (■) o ciclo de reação e taxa de consumo do nutriente (\blacktriangle) na CCM de duas câmaras alimentadas com água residuária de produção de vinho durante o período experimental..... 103
- Figura 7.4: Geração de eletricidade (A, U) durante a vida da CCM alimentada com água residuária de produção de vinho: média diária da tensão elétrica (■) e a tendência (—). O perfil temporal da eficiência Coulombica (B, EC) obtida pela CCM alimentada com água residuária de produção de vinho durante o período experimental: valores diários (■) e tendência (—). 105
- Figura 7.5: Perfil diário da tensão elétrica em diferentes dias e condições: sem suplementação de nutrientes no 12º dia de operação(\blacktriangle); adicionado 10 mg P-PO₄³⁻ L⁻¹ na água

- residuária de produção de vinho no 16º dia de operação (■) e adicionando 10 mg P- $\text{PO}_4^{3-} \text{ L}^{-1}$ e 100 mg NT L^{-1} no 27º, 30º e 37º dia de operação (○, ● e □, respectivamente). 107
- Figura 7.6: Curvas de polarização (A e B) obtidas na CCM alimentada com água residuária de produção de vinho. As curvas do 5º(■) e 13º (□) dia foram realizadas sem a suplementação de nutrientes na água residuária de produção de vinho, as do 18º (▲) e 25º (△) dia de operação foram feitas com a adição de 10 mg P- $\text{PO}_4^{3-} \text{ L}^{-1}$ e as do dia 28º, 33º e 40º dia (●,○, ×, respectivamente) foram realizadas adicionando 10 mg P- $\text{PO}_4^{3-} \text{ L}^{-1}$ e 100 mg NT L^{-1} 108
- Figura 7.7: Perfil temporal da condutividade monitorada no ânodo da CCM alimentada com água residuária de produção de vinho durante o período experimental: antes (▲) e depois (△) de cada ciclo diário e tendência (—)..... 109
- Figura 8.1: Instalação experimental com CCM e o sistema de aquisição de dados *online* composto de um multímetro e de um computador..... 114
- Figura 8.2: Valores médios de DQO (A), nitrogênio total (NT, B) e fósforo total (PT, C) antes (□) e depois (■) do ciclo e a taxa de consumo em diferentes tempos de retenção celulares estudados (△) nas CCM alimentadas com água residuária de produção de vinho..... 116
- Figura 8.3: Perfil temporal de DQO antes (×) e depois de cada ciclo diário na CCM 1 (A) e na CCM2 (B) em todas as condições estudadas alimentadas com água residuária de produção de vinho: na CCM 1 com TRC de 1,4 d (●); com TRC de 2,3 d (△) e com TRC de 7,0 d (○) e na CCM 2 com TRC de 1,2 d (□), com TRC de 1,8 d (▲) e com TRC de 3,5 d (■). 117
- Figura 8.4: Relação entre a concentração de SSV (■) e a COVE (○) em diferentes TRC estudados nas CCM alimentadas com águas residuárias de produção de vinho..... 119
- Figura 8.5: Geração de eletricidade durante a vida da CCM alimentada com água residuária de produção de vinho em diferentes TRC: 1,2 (□), 1,4(●), 1,8(×), 2,3 (-), 3,5(■), 7,0 (○) d e a tendência (—) em cada caso estudado (A). O perfil diário da tensão elétrica gerada (U) em diferentes dias e condições (B): com TRC de SRT 1.2 d no 83º dia (□), com TRC de 1,4 d no 86º dia (●), com TRC de 1,8 d no 63º dia (×), com TRC de 2,3 d no 68º dia (-), com TRC de 3,5 d no 30º dia e com TRC de 7,0 no 31º dia de operação. 120
- Figura 8.6: Curvas de polarização (A e B) obtidas na CCM alimentada com água residuária de produção de vinho em diferentes TRC: 1,2 (□), 1,4(●), 1,8(▲), 2,3 (△), 3,5(■), 7,0 (○) d..... 121

- Figura 8.7: Relação entre a tensão elétrica média (\square , tendência — —) e a densidade de potência máxima (\blacksquare e tendência — — —) em diferentes TRC estudados..... 122
- Figura 8.8: Eficiência Coulombica durante a vida da CCM alimentada com água residuária de produção de vinho em diferentes TRC 1,2 (\square), 1,4(\bullet), 1,8(Δ), 2,3 (\blacktriangle), 3,5(\blacksquare), 7,0 (\circ) e a tendência em cada caso estudado (—)..... 123
- Figura 9.1: Esquema de todo o aparato experimental e da micro CCM usada no ensaio para avaliar a influência da configuração do eletrodo usando água residuária de produção de vinho..... 126
- Figura 9.2: Variação temporal da tensão elétrica da CCM alimentado com água residuária de produção de vinho com diferentes materiais de eletrodos estudados: feltro de carbono (\blacksquare), tecido de carbono (\bullet) e papel de carbono (\blacktriangle). 129
- Figura 9.3: Concentração dos microrganismos aderidos no eletrodos do ânodo da CCM alimentadas com água residuária de produção de vinho com os diferentes materiais de eletrodos estudados e fotografia da distribuição dos microrganismos no feltro de carbono, tecido de carbono e papel de carbono. 130
- Figura 9.4: Curva de polarização obtidas na CCM alimentada com água residuária de produção de vinho em diferentes materiais de eletrodo usados: feltro de carbono (A e B), tecido de carbono (C e D) e papel de carbono (E e F) em diferentes dias de operação: 5° (\bullet), 12° (\square) e 19° (\blacktriangle)..... 132
- Figura 9.5: Valores médios de DQO (A), nitrogênio total (NT, B) e fósforo total (PT, C) antes (\square) e depois (\blacksquare) do ciclo diário de reação, a velocidade de consumo (\blacksquare) e a eficiência (\bullet) no diferentes materiais de eletrodo estudados na CCM alimentada com água residuária de produção de vinho. 134
- Figura 9.6: Curva de consumo de oxigênio dissolvido (OD) obtidas na CCM alimentadas com água residuárias de produção de vinho em diferentes matérias de eletrodos testados: feltro de carbono (A), tecido de carbono (B) e papel de carbono (C) em diferentes dias da operação: 4° (\bullet), 11° (\square) e 18° (\blacktriangle) dia de operação..... 136
- Figura 9.7: Velocidade média de consumo médio de oxigênio dissolvido no cátodo nos diferentes eletrodos usados nas CCM alimentadas com águas residuárias de produção de vinho..... 137

Lista de Tabelas

Tabela 4.1: Características do tecido de carbono usado como eletrodo na CCM de duas câmaras sem membrana de íon seletivo.	35
Tabela 4.2: Caracterização do efluente sintético utilizado a base de sacarose constituída de 4000 mg L ⁻¹ de DQO.	36
Tabela 4.3: Análise, metodologia e frequência dos parâmetros operacionais.....	37
Tabela 4.4: Condição de operação das CCM para avaliar a influência do TDH e da temperatura de operação.	39
Tabela 4.5: Valores médios da concentração efluente de DQO e da eficiência de remoção de DQO (ξ_{DQO}) em todo o período experimental (PE) e no período de estado estacionário (<i>steady-state</i> , PS) nas condições mesofílicas e termofílicas nos diferentes TDH estudados.	43
Tabela 4.6: Valores médios de tensão elétrica e da condutividade da solução em todo o período experimental (PE) e no período de estado estacionário (<i>steady-state</i> , PS).....	47
Tabela 4.7: Valores médios de eficiência Coulombica (EC) em todo o período experimental (PE) e no período de estado estacionário (<i>steady-state</i> , PS).....	52
Tabela 4.8: Velocidade de colonização do eletrodo no ânodo e no cátodo da CCM, índice de dominância e de Shannon nas diferentes condições operacionais.	54
Tabela 4.9: Resultados do sequenciamento massivo das amostras do ânodo e do cátodo da CCM operada em condição mesofílica e termofílica com TDH de 4 h.	58
Tabela 5.1: Condição de operação das CCM para avaliar a influência da razão de recirculação no cátodo.	73
Tabela 5.2: Valores médios da concentração efluente de DQO e da eficiência de remoção de DQO (ξ_{DQO}) em todo o período experimental (PE) e no período de estado estacionário (<i>steady-state</i> , PS).	73
Tabela 5.3: Valores médios de tensão elétrica e da condutividade da solução em todo o período experimental (PE) e no período de estado estacionário (<i>steady-state</i> , PS).....	77
Tabela 5.4: Valores médios de eficiência Coulombica (EC) em todo o período experimental (PE) e no período de estado estacionário (<i>steady-state</i> , PS).....	82
Tabela 6.1: Caracterização da vinhaça afluyente coletada em maio e junho de 2014.	86
Tabela 7.1: Características do feltro de carbonos usado como eletrodo na CCM de duas câmaras com membrana de íon seletivo.....	99

Tabela 7.2: Características da água residuária de produção de vinho usadas.	100
Tabela 7.3: Comparação de desempenho de diferentes CCM tratando resíduos agroindustriais.	110
Tabela 8.1: Características da água residuária de produção de vinho usada no experimento para avaliação da influência do tempo de retenção celular.....	115
Tabela 8.2: Média de condutividade depois de cada ciclo diário para todos os TRC estudados.	121
Tabela 9.1: Características do papel de carbono, do feltro de carbono e tecido de carbonos usados como eletrodos na CCM de duas câmaras.	127
Tabela 9.2: Características da água residuária de produção de vinho usada no experiento sobre a influência dos materiais do eletrodo.....	128

Lista de abreviações e siglas

- CCM – Célula a combustível microbiana
- DBO - Demanda biológica de oxigênio
- DQO - Demanda química de oxigênio
- ξDQO - Eficiência de remoção de DQO (ξDQO)
- EC – Eficiência Coulombica
- EESC – Escola de Engenharia de São Carlos
- F – constante de Faraday (96500 C mol^{-1})
- I – Corrente elétrica
- IQSC – Instituto de Química de São Carlos
- LPB - Laboratório de processos biológicos
- MA4 – Ânodo mesofílico da CCM operada com TDH de 4h
- MC4 – Cátodo mesofílico da CCM operada com TDH de 4h
- MTP – Membrana trocadora de próton
- NT – Nitrogênio Total
- OD - Oxigênio dissolvido
- PE – período experimental
- pH - Potencial hidrogeniônico
- PS – Período de estado estacionário (*stead-state*)
- PT - Fósforo total
- RVC – *reticulated vitreo carbon* (carbono vítreo reticulado)
- SSF - Sólidos suspensos fixos
- SST - Sólidos suspensos totais
- SSV - Sólidos suspensos voláteis
- ST - Sólidos totais
- STF - Sólidos totais fixos
- STV - Sólidos totais voláteis
- TA4 – Ânodo termofílico da CCM operada com TDH de 4h
- TC4 – Cátodo termofílico da CCM operada com TDH de 4h
- TDH - Tempo de detenção hidráulica
- TRC – Tempo de retenção celular
- UASB - *Upflow anaerobic sludge blanket* (reator anaeróbio de manta de lodo)
- USP - Universidade de São Paulo

Sumário

APRESENTAÇÃO	1
1 INTRODUÇÃO	3
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	9
2.1 CÉLULA A COMBUSTÍVEL MICROBIANA (CCM).....	9
2.2 ROTAS METABÓLICAS DA CONVERSÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA EM ENERGIA ELÉTRICA.....	10
2.3 MECANISMOS DE TRANSFERÊNCIA DE ELÉTRONS DOS MICRORGANISMOS AOS ELETRODOS.....	14
2.4 TIPOS DE CÉLULAS A COMBUSTÍVEL MICROBIANA	18
2.4.1 <i>Célula a combustível microbiana de duas câmaras com membrana de íons seletivo</i>	19
2.4.2 <i>Célula a combustível microbiana de câmara única com membrana de íons seletivo</i>	19
2.4.3 <i>Célula a combustível microbiana de duas câmaras sem membrana de íons seletivo</i>	20
2.5 CONDIÇÕES OPERACIONAIS.....	21
2.5.1 <i>Temperatura</i>	21
2.5.2 <i>Tempo de detenção hidráulica (TDH)</i>	23
2.5.3 <i>Material do eletrodo</i>	25
2.6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	28
3 HIPÓTESES E OBJETIVOS	29
3.1 OBJETIVO GERAL	29
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
4 INFLUÊNCIA DO TEMPO DE DETENÇÃO HIDRÁULICA (TDH) E DAS CONDIÇÕES MESOFÍLICAS E TERMOFÍLICAS DE TEMPERATURA NO DESEMPENHO DE CÉLULA A COMBUSTÍVEL MICROBIANA SEM MEMBRANA DE ÍON SELETIVA.....	33

4.1	INTRODUÇÃO	33
4.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	34
4.2.1	<i>Célula a combustível microbiana (CCM)</i>	34
4.2.2	<i>Água residuária</i>	36
4.2.3	<i>Inóculo</i>	36
4.2.4	<i>Métodos de análises</i>	37
4.2.5	<i>Operação do sistema</i>	39
4.2.6	<i>Avaliação da comunidade microbiana</i>	39
4.2.6.1	PCR-DGGE	39
4.2.6.2	Sequenciamento Massivo	40
4.2.7	<i>Tratamento estatístico</i>	42
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
4.3.1	<i>Remoção de matéria orgânica</i>	42
4.3.2	<i>Geração de energia</i>	46
4.3.3	<i>Adesão de biomassa e comunidade microbiana</i>	52
4.3.4	<i>Caracterização da comunidade microbiana pelo sequenciamento massivo</i>	58
4.4	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	67
5	INFLUÊNCIA DA RAZÃO DE RECIRCULAÇÃO NO CÁTODO DA CCM E DA TEMPERATURA DE OPERAÇÃO DA CCM NA REMOÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA E GERAÇÃO DE ENERGIA.....	71
5.1	INTRODUÇÃO	71
5.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	71
5.2.1	<i>Operação da Célula a Combustível</i>	71
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
5.3.1	<i>Remoção de matéria orgânica</i>	73
5.3.2	<i>Geração de energia elétrica</i>	76
5.4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	83
6	TRATAMENTO DE VINHAÇA DE CANA DE AÇÚCAR E GERAÇÃO DE ENERGIA ELÉTRICA DIRETA EM CÉLULA A COMBUSTIVEL MICROBIANA EM CONDIÇÃO TERMOFÍLICA: INFLUÊNCIA DO TEMPO DE DETENÇÃO HIDRÁULICA.....	85
6.1	INTRODUÇÃO	85
6.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	86

6.2.1	<i>Operação da CCM</i>	86
6.2.2	<i>Água residuária</i>	86
6.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	87
6.3.1	<i>Geração de energia</i>	87
6.3.2	<i>Tratamento da vinhaça de cana de açúcar</i>	90
6.4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	94
7	INFLUÊNCIA DA RELAÇÃO DE CARBONO, NITROGÊNIO E FÓSFORO NA PRODUÇÃO DE ENERGIA ELÉTRICA EM CÉLULA A COMBUSTÍVEL MICROBIANA DE DUAS CÂMARAS TRATANDO ÁGUA RESIDUÁRIA DE PRODUÇÃO DE VINHO	97
7.1	INTRODUÇÃO	97
7.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	97
7.2.1	<i>Célula a combustível microbiana (CCM) e operação</i>	97
7.2.2	<i>Água residuária e inóculo</i>	99
7.2.3	<i>Métodos analíticos</i>	100
7.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	100
7.3.1	<i>Remoção de matéria orgânica</i>	100
7.3.2	<i>Caracterização eletroquímica do sistema</i>	104
7.4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	110
8	INFLUÊNCIA DO TEMPO DE RETENÇÃO CELULAR NA PRODUÇÃO DE ENERGIA ELÉTRICA EM CÉLULA A COMBUSTÍVEL MICROBIANA DE DUAS CÂMARAS TRATANDO ÁGUA RESIDUÁRIA DE PRODUÇÃO DE VINHO	113
8.1	INTRODUÇÃO	113
8.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	113
8.2.1	<i>Célula a combustível microbiana (CCM) e operação</i>	113
8.2.2	<i>Água residuária e inóculo</i>	114
8.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	115
8.3.1	<i>Remoção de matéria orgânica</i>	115
8.3.2	<i>Caracterização eletroquímica do sistema</i>	119
8.4	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	123
9	INFLUÊNCIA DA CONFIGURAÇÃO DO ELETRODO DE CARBONO NA RECUPERAÇÃO DE ENERGIA A PARTIR DO TRATAMENTO DE ÁGUA	

RESIDUÁRIA DE PRODUÇÃO DE VINHO USANDO UMA CCM DE CÂMARA DUPLA	125
9.1 INTRODUÇÃO	125
9.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	126
9.2.1 <i>Célula a combustível microbiana e operação</i>	126
9.2.2 <i>Água residuária e inóculo</i>	127
9.2.3 <i>Métodos analíticos</i>	128
9.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	129
9.3.1 <i>Geração de energia elétrica</i>	129
9.3.2 <i>Tratamento da água residuária no ânodo da CCM</i>	133
9.3.3 <i>Consumo de oxigênio dissolvido no cátodo da CCM</i>	135
9.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	137
10 CONCLUSÕES	139
11 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	143

Apresentação

A presente tese de doutorado está estruturada de maneira a facilitar ao leitor a compreender as hipóteses consideradas, o aparato experimental utilizado, os resultados obtidos e os avanços científicos alcançados. Desta maneira, a estrutura do texto foi dividida em 11 capítulos.

O primeiro capítulo é uma introdução que apresenta a problemática da demanda energética, do uso insustentável dos combustíveis fósseis e da ausência de tratamento de águas residuárias e suas consequências para o meio ambiente. Além disso, as células a combustível microbiana (CCM), que são o tópico de estudo deste trabalho, são apresentadas como uma tecnologia incipiente e promissora que pode tratar as águas residuárias e gerar energia, sendo uma solução aos problemas apresentados.

No segundo capítulo, é apresentada uma revisão bibliográfica que descreve de forma sucinta o conhecimento prévio e as lacunas existentes dando as bases para o desenvolvimento das hipóteses consideradas neste trabalho. Neste capítulo, também são definidos os termos e conceitos usados na linha de pesquisa de bioeletroquímica.

O terceiro capítulo apresenta as hipóteses consideradas com base no estado da arte apresentado na revisão bibliográfica e os objetivos relacionados ao tópico e à problemática delineada na introdução deste trabalho.

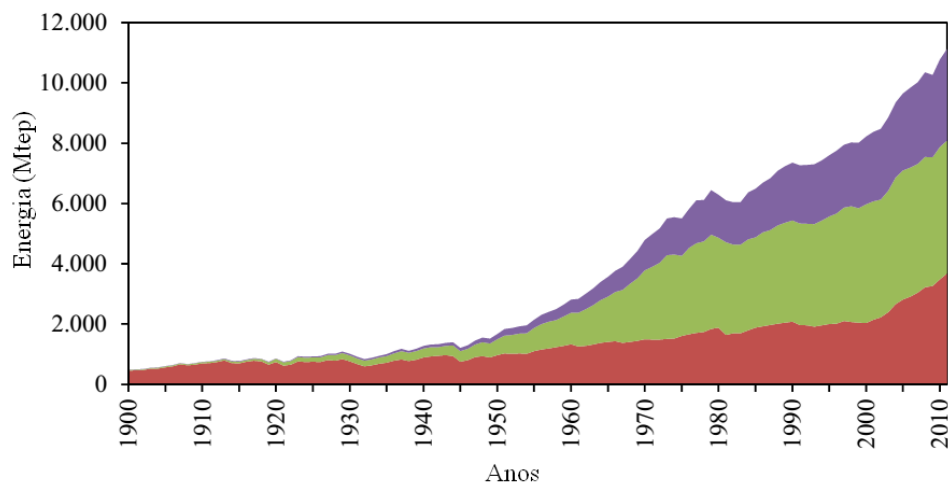
Os capítulos 4, 5, 6, 7, 8 e 9 apresentam uma breve introdução apontando as lacunas existentes para a formulação da hipótese a ser testada, as metodologias de análise, os protocolos experimentais usados e discute os resultados obtidos de cada protocolo experimental de maneira a formar a tese a partir de cada hipótese. Vale ressaltar que a organização desses capítulos foi estruturada para que não haja confusão com a condição experimental usada. Alguns métodos analíticos que se repetem foram descritos uma só vez, para que não houvesse repetição e cansaço do leitor.

O décimo capítulo apresenta as conclusões da tese ou a antítese das hipóteses estabelecidas e o último as referências bibliográficas usadas.

1 Introdução

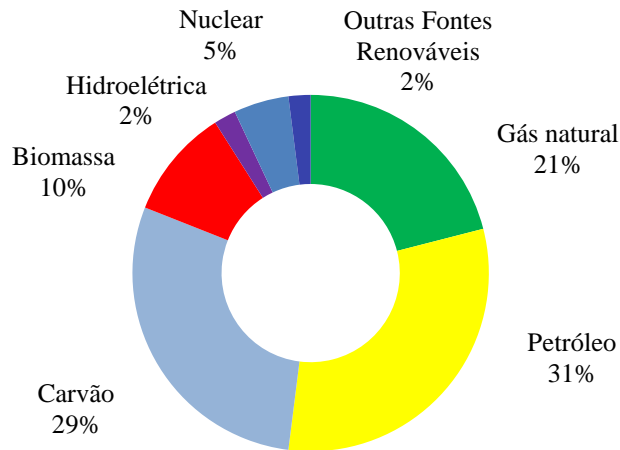
Atualmente, a sociedade é dependente de $4,10 \times 10^{20}$ J de energia por ano, equivalente a energia contida em 9×10^{16} L de petróleo. A energia se tornou-se algo indispensável e insubstituível para a realização das atividades do cotidiano (COLEY, 2008 e HÖÖK *et al.*, 2012).

Os combustíveis fósseis são fontes de energia que proporcionam alta densidade energética e podem ser transportados de um lugar a outro. Assim, desde a Revolução Industrial no século XVIII, os combustíveis fósseis são a força motriz do mundo industrializado e do desenvolvimento e crescimento econômico. O consumo de combustíveis fósseis tem crescido desde valores insignificantes em 1800 até o uso de 10 bilhões de toneladas equivalentes de petróleo (tep), aproximadamente 80% da demanda global (31% petróleo, 29% carvão e 21% gás natural, AGÊNCIA INTERNACIONAL DE ENERGIA, 2013 e DAS & VEZIROGLU, 2001). Na Figura 1.1, observa-se a evolução do consumo de combustíveis fósseis desde 1900 a 2010 (HÖÖK *et al.*, 2012 e HÖÖK & TANG, 2013). Na Figura 1.2, se apresenta a distribuição por tipo de fonte do consumo primário de energia no mundo (AGÊNCIA INTERNACIONAL DE ENERGIA, 2013).



Fonte: HÖÖK & TANG, 2013.

Figura 1.1: Evolução do consumo de energia derivada de combustíveis fósseis desde 1900 até 2010: gás natural (■), petróleo (■) e carvão (■).



Fonte: AGÊNCIA INTERNACIONAL DE ENERGIA, 2013.

Figura 1.2: Distribuição por tipo de fonte do consumo mundial de energia primária no ano de 2011.

Desta forma, os combustíveis fósseis apoiaram a industrialização e o crescimento econômico durante o século passado. No entanto, o uso indiscriminado dos combustíveis fósseis tem levado a graves consequências de cunho político, social e ambiental: como o esgotamento dos combustíveis fósseis e o aquecimento global.

Os depósitos de combustíveis fósseis são limitados fisicamente e/ou economicamente. Vários milhões de anos são necessários para a formação e acúmulo dos combustíveis fósseis, enquanto que sua posterior extração ocorre rapidamente; assim, é impossível que a velocidade de geração iguale a velocidade de extração e de consumo, tornando os combustíveis fósseis um recurso finito que certamente se esgotará (HÖÖK *et al.*, 2010).

Além dos problemas da dependência de um combustível limitado, o uso dos combustíveis fósseis como fonte energética ocorre mediante a combustão dos mesmos, levando a emissão de compostos contaminantes, como, por exemplo, óxidos de nitrogênio, monóxido de carbono; e de gases de efeito estufa, como, dióxido de carbono e metano (BROUWER, 2010). Os gases de efeito estufa provocam o aquecimento global que tem como consequência as mudanças climáticas. Outro ponto negativo dos combustíveis fósseis é a baixa eficiência energética, pois somente 30% da energia dissipada pela combustão são aproveitados para geração de trabalho, sendo o restante se perde na forma de calor (BROUWER, 2010).

A queima de combustíveis fósseis emite anualmente, aproximadamente, 35 Gt de carbono na forma de dióxido de carbono (PAINEL INTERGOVERNAMENTAL DE MUDANÇAS CLIMÁTICAS, 2014). Neste contexto, o setor energético é o principal responsável pelas emissões das emissões gases de efeito estufa, representando 80% das emissões totais da União Europeia (AGÊNCIA EUROPEIA DE MEIO AMBIENTE, 2007)

Dessa forma, considerando os problemas causados pelo uso dos combustíveis fósseis e a fim de evitar as consequências drásticas do atual modelo energético, baseado no uso irrestrito dos combustíveis fósseis, é necessária a transição progressiva para o uso de fontes alternativas de geração de energia que sejam renováveis e ambientalmente amigáveis (KHAN *et al.*, 2007). O desenvolvimento de energias renováveis serve como um mecanismo para minimizar o impacto no meio ambiente da alta demanda energética, melhorar a economia local e incrementar a participação da comunidade no processo de gestão do meio ambiente; ademais o uso de fontes renováveis reduz a dependência energética dos combustíveis fósseis (KHAN *et al.*, 2007; COSMI *et al.*, 2003).

Além dos impactos ambientais e sociais causados pela demanda energética e o uso irrestrito dos combustíveis fósseis, o desenvolvimento industrial tem provocado o lançamento *in natura* de águas residuárias, ricas em matéria orgânica e em nutrientes, como, nitrogênio e fósforo. A emissão destes efluentes pode causar vários danos ao ambiente aquático e à saúde humana. No aspecto ambiental, podem ocorrer os processos de eutrofização de corpos d'água, favorecendo o crescimento da comunidade planctônica e das macrófitas aquáticas que causam a diminuição do oxigênio dissolvido (OD) do corpo hídrico; e, os processos de deterioração da qualidade das águas superficiais e subterrâneas, como, mudanças no pH, produção de toxinas, floração de cianobactérias entre outros. Tratando de saúde humana, o não tratamento das águas residuárias pode causar a febre tifoide, amebíase, giardíase, leptospirose e outras doenças mais graves, como, o câncer.

O processo de tratamento de águas residuárias mais empregado atualmente, o sistema aeróbio, apresenta elevados gastos de energia elétrica, sendo a aeração o principal processo de consumo de energia representando 50% do consumo de energia elétrica das estações de tratamento. Nos Estados Unidos, o consumo de energia elétrica pelas unidades de tratamento de água residuárias representa entre 4-5% de toda energia elétrica gerada, o que equivale a $1,5 \times 10^8$ MWh (LOGAN & RABAEY, 2012). Para que se tenha uma ideia de grandeza, esse valor é 50% maior que a energia gerada pela usina hidrelétrica de Itaipu no ano de 2011 ($92,24 \times 10^6$ MWh, ITAIPU, 2012). Por outro lado, as águas residuárias apresentam um potencial para recuperação de energia visto que parte dos contaminantes orgânicos pode ser oxidada e liberar energia. A partir do esgoto sanitário, pode se recuperar $9,5 \text{ kJ L}^{-1}$ a partir da oxidação dos compostos orgânicos (LOGAN, 2008). Portanto, se a energia contida nos contaminantes orgânicos da água residuária fosse aproveitada poder-se-ia atingir a autossuficiência de uma estação de tratamento de águas residuárias.

Muitos esforços estão sendo empregados no desenvolvimento e na avaliação de métodos alternativos de geração de energia que sejam de origem renováveis e que tenham emissão neutra de dióxido de carbono visando minimizar o impacto ambiental da demanda energética e do desenvolvimento industrial. Entre essas novas tecnologias, se destacam as que tratam as águas residuárias e recuperam parte da energia, agregando valor a algo que seria descartado. Entre as formas de recuperação de energia se destacam o biogás, a bioeletricidade e os biocombustíveis.

Dentro das alternativas, as células a combustível microbianas (CCM) tem se tornado uma tecnologia emergente e promissora que converte diretamente a energia química armazenada nas moléculas orgânicas e inorgânicas em energia elétrica, usando microrganismos como biocatalisadores (RODRIGO *et al.*, 2007). Quando águas residuárias são utilizadas como combustível, os microrganismos oxidam a matéria orgânica no ânodo e geram elétrons, que se movem através de um circuito elétrico externo até o cátodo onde reduzem um aceptor de elétrons. O transporte dos prótons pode ser através do meio líquido ou por uma membrana de íon seletivo para manter o balanço de cargas na célula (RABAEY & VERSTRAETE, 2005; LOGAN *et al.*, 2006; YOU *et al.*, 2006). Assim, as CCM permitem duplo benefício o tratamento de águas residuárias e a geração de energia, sendo uma abordagem promissora para mitigar os impactos ambientais causados pelos resíduos gerados pela atividade antrópica (RABAEY & VERSTRAETE, 2005).

A aplicação da CCM para o tratamento de água residuária é muito atrativa devido à recuperação de energia, assim como à redução da produção de lodo excedente, diminuindo os gastos com tratamento e disposição. Espera-se que esse processo possa gerar menores quantidades de lodo do que os sistemas de lodos ativados convencionais, visto que maior parte da energia disponível pela oxidação da matéria orgânica seria convertida em eletricidade e o restante seria usado para o crescimento microbiano. O rendimento celular em sistemas aeróbios é estimado na faixa de 0,4 a 0,8 g SSV g⁻¹ DBO, enquanto que, nas CCM, varia entre 0,035 e 0,4 g SSV g⁻¹ DBO, mesma faixa observada para os microrganismos anaeróbios e fermentadores (OH *et al.*, 2010 e JANG *et al.*, 2004).

Diversos fatores interferem no funcionamento de uma CCM, como: tipo de substrato, material do eletrodo, temperatura, microrganismos, tempo de detenção hidráulica (TDH), tempo de retenção celular (TRC), uso ou não de membranas de íon seletivo, tamanho da célula, uso de catalisadores no cátodo e uso de mediadores de transferência de elétrons (GIL *et al.*, 2003; JANG *et al.*, 2004; DU *et al.*, 2007; AHN & LOGAN, 2010; PATIL *et al.*, 2010; HUANG *et al.*, 2011; TANG *et al.*, 2012; AKMAN *et al.*, 2013; GONZALEZ DEL CAMPO

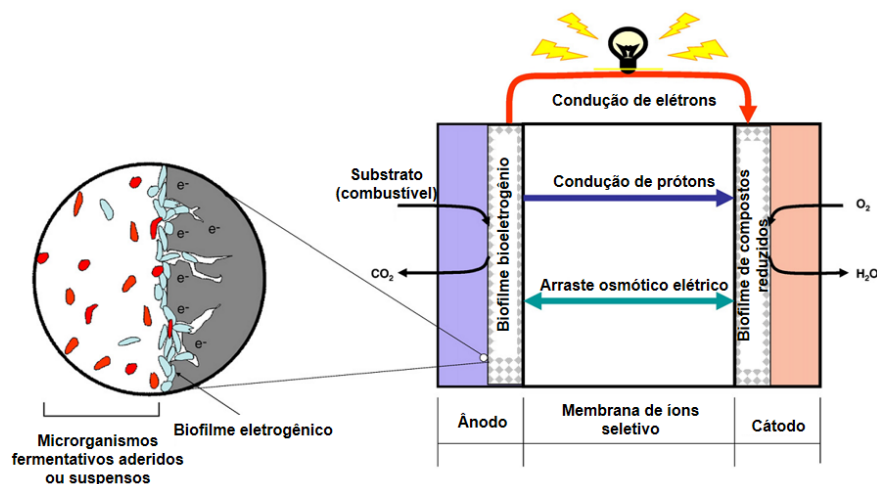
et al., 2013). Vários estudos foram realizados buscando a melhora da geração de energia elétrica e do tratamento de água residuária usando CCM, porém não há um consenso de como esses parâmetros influenciam o desempenho de uma CCM. Desta forma, há a necessidade de realizar estudos mais aprofundados sobre os parâmetros operacionais para aumentar a produção de energia elétrica direta e a eficiência do tratamento da água residuária, pois o conhecimento das condições que aperfeiçoem o processo é relevante para a aplicação das CCM como uma tecnologia de tratamento de águas residuárias reais e geração de energia elétrica direta.

Por ser um tema de vanguarda, os trabalhos disponíveis são poucos e a maioria aborda o uso de célula a combustível em batelada típica, não analisando a geração de energia em sistemas contínuos ou semi-contínuos. No Brasil, há poucos grupos que trabalham com processos bioeletroquímicos, pois essa linha de pesquisa demanda conhecimento de diferentes áreas da engenharia e da ciência, abrangendo desde a microbiologia e eletroquímica à de engenharia ambiental e de materiais (LOGAN *et al.*, 2006). Neste contexto, esse trabalho teve como objetivo unir as experiências prévias de dois grupos de grande inserção nacional e internacional: o Laboratório de Processos Biológicos da Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo (LPB-EESC-USP) e o grupo de Eletroquímica do Instituto de Química de São Carlos, também da USP (GE-IQSC-USP). O LPB-EESC-USP é um dos pioneiros do uso de reatores biológicos aplicados à geração de bioenergia (hidrogênio e metano) a partir do tratamento de águas residuárias. O GE-IQSC-USP é um dos precursores no desenvolvimento de células a combustível a hidrogênio e de pesquisa no desenvolvimento de CCM para a produção de energia a partir do tratamento de água residuária, usando glicerol.

2 Revisão Bibliográfica

2.1 Célula a Combustível Microbiana (CCM)

A célula a combustível microbiana (CCM) é um dispositivo que usa microrganismos como catalisadores para converter a energia estocada em compostos orgânicos e inorgânicos em corrente elétrica, ou seja, é um sistema bioeletroquímico que converte a energia química de um substrato em energia elétrica por meio de reações catalíticas de microrganismos (RABAEY & VERSTRAETE, 2005; LOGAN *et al.*, 2006). Na Figura 2.1, o esquema ilustra uma célula a combustível microbiana (CCM) de duas câmaras com membrana trocadora de prótons.



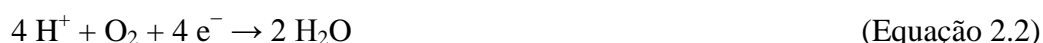
Fonte: adaptado de OH *et al.* (2010)

Figura 2.1: Esquema de uma célula a combustível microbiana (CCM) de duas câmaras com membrana trocadora de prótons.

Os microrganismos na câmara do ânodo oxidam o substrato anaerobiamente e geram elétrons e prótons no processo. O gás carbônico é, também, um produto deste processo. A Equação 2.1 apresenta o processo de oxidação da glicose e a geração de prótons e elétrons no ânodo da CCM (GRZEBYK & POZNIAK, 2005). A digestão anaeróbia pode dirigir os elétrons do substrato da CCM para outros produtos, como, hidrogênio e metano, reduzindo a geração de energia elétrica pela CCM.



Os elétrons gerados na oxidação do combustível no ânodo da CCM são absorvidos pelo ânodo e são transportados para o cátodo por meio de um circuito elétrico externo. Os prótons, depois de atravessar a membrana trocadora de prótons, entram na câmara do cátodo onde reduzem o agente oxidante. Normalmente, se utiliza o oxigênio como agente oxidante que reage com os prótons e os elétrons gerados no ânodo e que passaram pela membrana trocadora de prótons e pelo circuito externo, para formar água na superfície do eletrodo do cátodo. A Equação 2.2 representa essa reação (DU *et al.*, 2007).



O fluxo de elétrons através do circuito externo produz uma corrente elétrica que pode ser mensurada e utilizada para realizar trabalho. A reação global da célula é a conversão do material orgânico biodegradável a dióxido de carbono e água, gerando energia elétrica no processo (RABAEY; VERSTRAETE, 2005). A Equação 2.3 apresenta a reação global da CCM.



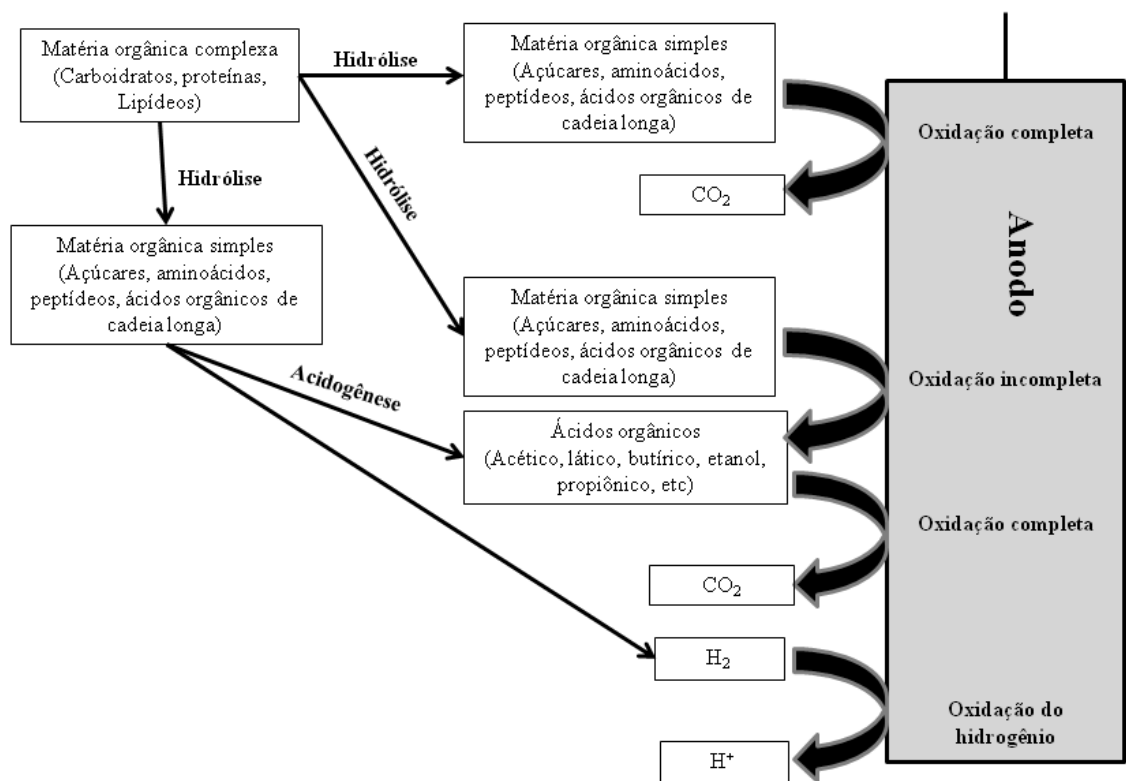
Desta forma, uma célula a combustível microbiana pode ser comparada, de maneira análoga, ao funcionamento de célula galvânica, que produz corrente contínua devido ao fluxo de elétrons, que circula do eletrodo de menor potencial de oxidação, que representa o polo negativo que se localiza no ânodo; para o maior potencial de oxidação que é o polo positivo que está no cátodo (RABAEY; VERSTRAETE, 2005).

2.2 Rotas metabólicas da conversão da matéria orgânica em energia elétrica

A geração de energia elétrica por microrganismos a partir de compostos orgânicos e inorgânicos é uma tecnologia que vem ganhando interesse nos últimos anos, pois possibilita gerar energia elétrica de uma ampla variedade de substâncias. Atualmente, há pouca informação disponível na literatura sobre as rotas metabólicas exercidas pelos microrganismos, embora a prova de que os eletrodos podem ser o acceptor final dos elétrons do metabolismo microbiano já exista há mais de 100 anos (LOVELEY, 2008; OH *et al.*,

2010). Potter (1911) relatou a geração de energia elétrica a partir da degradação de glicose por culturas puras de *Escherichia coli* e *Saccharomyces*.

O processo de geração de energia elétrica em células a combustível microbiana (CCM) pode ser descrito por várias vias que envolvem diferentes grupos microbianos. No entanto, todos usam o ânodo da CCM como acceptor final de elétrons. Na Figura 2.2, as principais rotas de conversão da matéria orgânica são apresentadas. Embora na Figura 2.2 esteja representada a transferência de elétrons direta entre os microrganismos e o eletrodo do ânodo, outras maneiras de transferência de elétrons podem ocorrer. Esses processos de transferência de elétrons serão explicados no item 2.3.

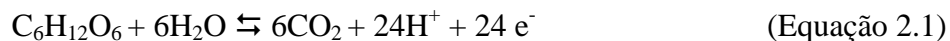


Fonte: adaptado de LOVLEY (2008).

Figura 2.2: Esquema da conversão de matéria orgânica complexa na redução do ânodo de CCM para geração de energia elétrica.

A fração mais complexa da matéria orgânica (polímeros) é hidrolisada em compostos mais simples, como, açúcares, aminoácidos e ácidos orgânicos. Alguns microrganismos aderidos ao eletrodo, como, os pertencentes ao gênero *Rhodospirillum rubrum*, conseguem utilizar estes compostos e realizar a oxidação completa (oxida o carbono orgânico a gás carbônico) transferindo os elétrons para ânodo, reduzindo este. A descoberta desta rota metabólica e das bactérias capazes de oxidar completamente a matéria orgânica e transferir eficientemente os elétrons ao ânodo da CCM é recente e um marco no desenvolvimento das CCM

(CHANDHURI *et al.*, 2003, RABAEY & VERSTRAETE, 2005 e LOVELEY, 2008). Na Equação 2.1, está apresentada a oxidação completa da glicose realizada pela *Rhodoferax*.



Outros microrganismos aderidos ao eletrodo podem realizar a oxidação incompleta dos compostos orgânicos complexos a compostos orgânicos mais simples, gerando acetato e outros ácidos de cadeia curta, como, propionato, butirato. No metabolismo dos compostos orgânicos mais simples, estes microrganismos geram elétrons que reduzem o ânodo da CCM. Microrganismos pertencentes às classes *Gammaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Alphaproteobacteria* ou *Clostridia* podem realizar esta rota metabólica em condições mesofílicas (LOVELEY, 2008). Em condições termofílicas, se destacam os microrganismos dos gêneros *Bacillus* e *Therminocola* que são capazes de utilizar compostos orgânicos simples como doador de elétrons para reduzir o ânodo (WRIGHTON *et al.*, 2008, CHOI *et al.*, 2004).

Os compostos mais simples gerados na fase de hidrólise podem ser usados pelos microrganismos fermentadores que podem ser aderidos ao eletrodo ou suspensos no meio líquido do ânodo. Essas bactérias fermentadoras produzem acetato e outros ácidos orgânicos de cadeia curta e hidrogênio que serviram de substrato para outros microrganismos. Essa rota metabólica pode implicar em elevadas produções de metabólitos de elevado valor agregado, como acetato e butirato, tornando a tecnologia da CCM mais interessante. Microrganismos pertencentes aos gêneros *Clostridium*, *Alcaligenes*, *Enterococcus* são capazes de gerar produtos fermentados e gerar energia elétrica direta (RABAEY & VERSTRAETE, 2005 e LOVELEY, 2008).

O acetato e outros ácidos orgânicos de cadeia curta gerados na hidrólise e na fermentação da matéria orgânica são completamente oxidados a dióxido de carbono pelos microrganismos aderidos ao eletrodo, que transferem os elétrons gerados neste processo para o ânodo, reduzindo-o. As bactérias pertencentes a classe *Geobacteraceae* são capazes de remover os elétrons do acetato e transferi-lo para o eletrodo do ânodo da CCM (RABAEY & VERSTRAETE, 2005 e LOVELEY, 2008).

As bactérias hidrogenotróficas oxidam completamente o hidrogênio produzido na hidrólise e na etapa de fermentação, liberando prótons e elétrons que são transferidos para o eletrodo, o acceptor final de elétrons na CCM (LOVELEY, 2008).

O potencial do ânodo determina o potencial redox do acceptor final de elétrons e, portanto, o metabolismo microbiano. Em alto potencial redox do ânodo, ou seja na presença

de oxigênio, as bactérias podem usar a cadeia respiratória e desempenhar um metabolismo de oxidação completa da matéria orgânica. Se o potencial do ânodo diminuir e houver a presença de aceptores alternativos de elétrons, tais como sulfato e nitrato, os microrganismos podem realizar a oxidação incompleta da matéria orgânica e os elétrons são susceptíveis de serem depositados nestes componentes, servindo como mediadores na transferência de elétrons. A fermentação é o processo principal quando o potencial do ânodo é baixo, pois os próprios compostos orgânicos são os aceptores de elétrons (RABAEY & VERSTRAETE, 2005). Na Tabela 2.1 estão apresentadas algumas reações de oxirredução que podem acontecer no ânodo e no catodo das CCM, sendo as de menor valor de potencial as que preferencialmente ocorrem no ânodo e as de maior valor de potencial as que preferencialmente ocorrem no catodo.

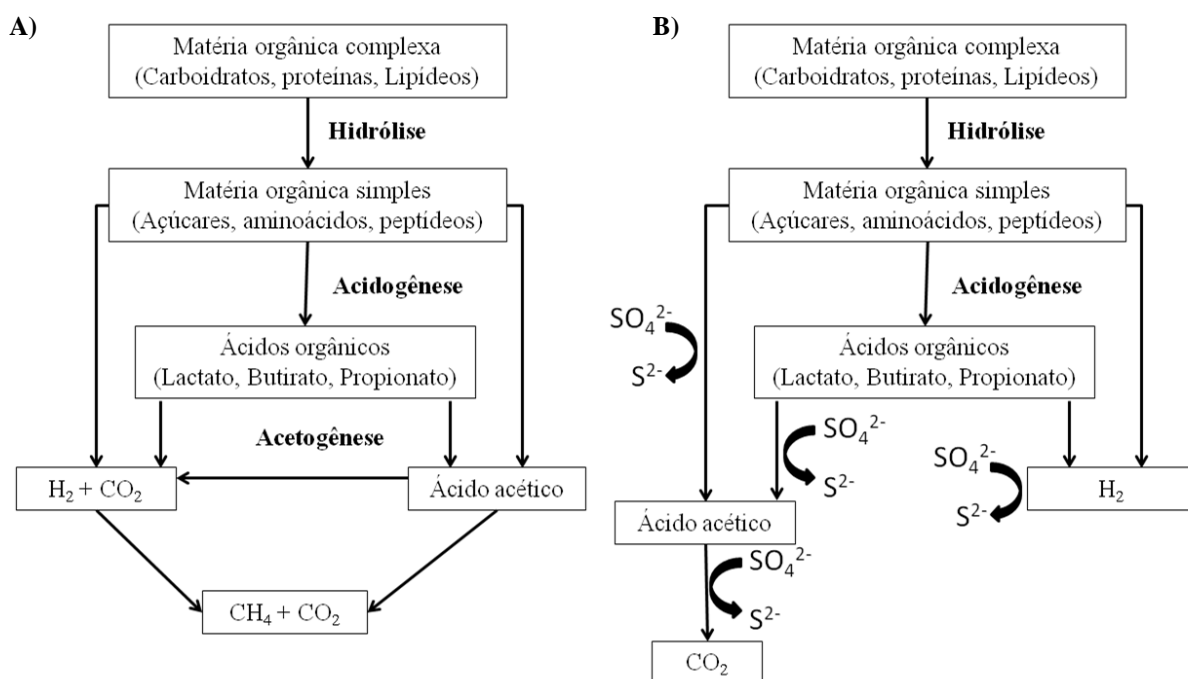
Tabela 2.1: Possíveis reações dos pares de oxidação e redução que podem ocorrer nas CCM.

Par de oxidação/redução	E°' (mV)
H ⁺ / H ₂	-420
NAD ⁺ /NADH	-320
S ⁰ / HS ⁻	-270
SO ₄ ²⁻ / H ₂ S	-220
Piruvato ²⁻ /Lactato ²⁻	-185
2,6-AQDS/ 2,6-AHQDS	-184
FAD/ FADH ₂	-180
Piocianina oxidada/ Piocianina reduzida	-34
Substâncias húmicas oxidada/ Substâncias húmicas reduzida	-200 a + 300
Fe(III)EDTA/ Fe(II)EDTA	+96
O ₂ /H ₂ O ₂	+275
Fe(III) NTA/ Fe(II)NTA	+385
NO ₃ ⁻ / NO ₂ ⁻	+421
Fe(CN) ₆ ³⁻ / Fe(CN) ₆ ⁴⁻	+430
NO ₂ ⁻ / NH ₄ ⁺	+440
O ₂ / H ₂ O	+820

Fonte: adaptado de Du *et al.* (2008).

A respiração que promove a redução do ânodo da CCM comoceptor final de elétrons compete com outros processos anaeróbios, como a metanogênese e sulfetogênese, pelo doador de elétrons. As arqueias metanogênicas usam o acetato e o hidrogênio, que também podem ser usados pelas bactérias redutoras do ânodo, como doador de elétrons e produzem metano e gás carbônico (CH₄ e CO₂). Na sulfetogênese, as bactérias redutoras do íon sulfato oxidam uma

ampla gama de compostos orgânicos (tais como formiato, etanol, acetato, metanol, piruvato, propionato, butirato, ácidos orgânicos de cadeia longa e ramificada e compostos aromáticos) e o hidrogênio e reduzem o íon sulfato (SO_4^{2-}) a sulfeto (HS^-). Na Figura 2.3, as rotas de degradação da matéria orgânica via metanogênese e sulfetogênese são apresentadas. Comparando a Figura 2.2 com a Figura 2.3, pode-se observar o uso dos mesmos doadores de elétrons para a metanogênese, sulfetogênese e exoeletrogênese. Portanto, as arqueias metanogênicas e as bactérias redutoras do íon sulfato competem pelo substrato com as bactérias redutoras do ânodo, diminuindo a eficiência da geração de energia.



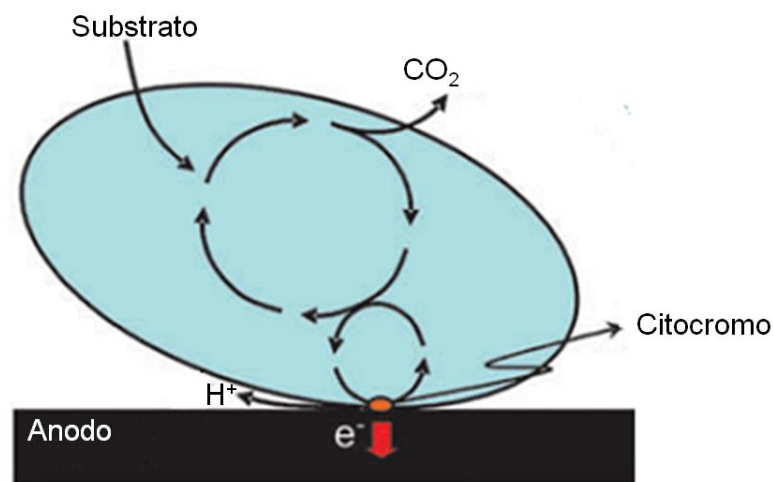
Fonte: adaptado de SPEECE (1983).

Figura 2.3: Esquema da conversão de matéria orgânica complexa na digestão anaeróbica pela metanogênese realizada pelas arqueias metanogênicas (A) e pela sulfetogênese realizada pelas bactérias redutoras de sulfato (B).

2.3 Mecanismos de transferência de elétrons dos microrganismos aos eletrodos

Atualmente, o conhecimento sobre os mecanismos de transferência de elétrons dos microrganismos ao ânodo da CCM podem ser divididos em dois grupos: um no qual a transferência de elétrons é mediada por mediadores redox e outro no qual a transferência de elétron é direta que não envolve espécies de mediadores redox dissolvidas ou aderidas ao eletrodo (SCHRÖDER, 2007 e LOVELEY, 2008).

A transferência direta de elétrons dos microrganismos ao eletrodo do ânodo da CCM implica em um contato físico e elétrico entre a membrana celular ou organelas da membrana dos microrganismos com o eletrodo para permitir a transferência do elétron de dentro para fora da célula microbiana. Desta forma, esse mecanismo requer que os microrganismos possuam macromoléculas na parte externa da membrana celular, como o citocromo do tipo-C que é uma proteína encontrada na membrana celular dos microrganismos pertencentes aos gêneros *Geobacter*, *Rhodospirillum rubrum* e *Shewanella*. Esses microrganismos usam o citocromo do tipo-C para a transferência de elétrons para um receptor final de elétrons sólido, por exemplo os óxidos de ferro (III) em ambientes naturais e ânodo nas CCM (SCHRÖDER, 2007 e LOVELEY, 2008). A Figura 2.4 apresenta uma ilustração da transferência direta de elétrons dos microrganismos ao eletrodo do ânodo da CCM por citocromos presentes na membrana celular.



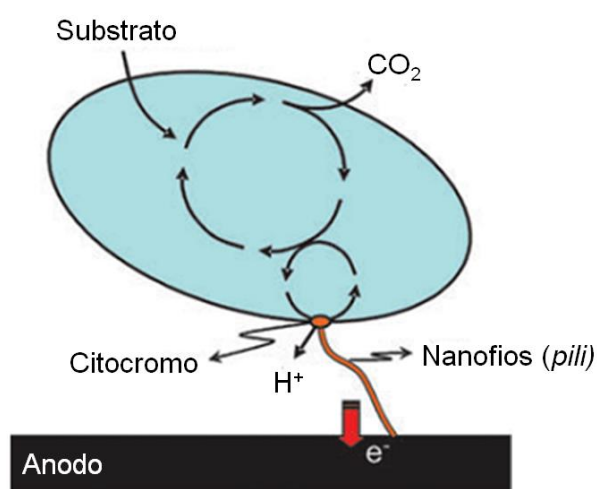
Fonte: Adaptado de SCHRÖDER (2007).

Figura 2.4: Esquema da transferência direta de elétrons do microrganismo para o eletrodo do ânodo por meio de citocromos.

Um dos problemas desse tipo de transferência é que somente os microrganismos na primeira camada de biofilme do eletrodo do ânodo (menor que 50 μm) são eletroquimicamente ativos, limitando o desempenho da CCM, pois somente os microrganismos que estiverem em contato físico direto podem reduzir o ânodo (SCHRÖDER, 2007 e LOVELEY, 2008).

Recentemente, estudos de expressão gênica demonstraram que nanofios microbianos (“*pili*”, em inglês), que são os filamentos eletroquimicamente condutor elétrico produzidos por algumas cepas de *Geobacter* e *Shewanella*, são importantes na transferência direta de elétrons dos microrganismos ao ânodo da CCM, pois permitem que os microrganismos estejam mais distantes do receptor de elétrons. Esses filamentos também permitem que os

microrganismos mais distantes do eletrodo o utilizem como acceptor final dos elétrons e não somente as células que estejam em contato direto com o eletrodo (SCHRÖDER, 2007 e LOVELEY, 2008). A formação destes nanofios microbianos pode permitir o desenvolvimento de um biofilme mais espesso e eletroquimicamente ativo, melhorando o desempenho da célula microbiana, pois mais organismos podem usar o ânodo da CCM como acceptor final de elétrons aumentando a corrente elétrica gerada pela célula. A Figura 2.5 apresenta uma ilustração da transferência direta de elétrons dos microrganismos ao eletrodo do ânodo da CCM por nanofios microbianos.



Fonte: Adaptado de SCHRÖDER (2007).

Figura 2.5: Esquema da transferência direta de elétrons do microrganismo para o eletrodo do ânodo por meio de nanofios eletroquimicamente ativos.

Outros mecanismos de transferência de elétrons são os mediados por substâncias que apresentam pares redox e podem representar um meio eficaz de conectar o metabolismo microbiano ao ânodo da CCM. Muitas abordagens diferentes têm sido propostas, e eles podem ser classificados pela natureza das espécies redox do mediador: exógena (que devem ser adicionados por não estarem presentes naturalmente no meio) ou por metabólitos secundários ou primários dos próprios microrganismos (SCHRÖDER, 2007).

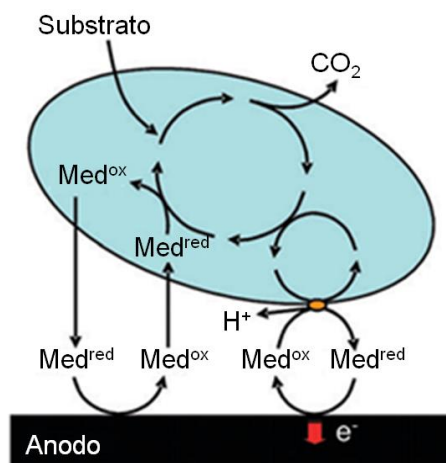
No mecanismo de transferência de elétrons com mediadores redox exógenos, os elétrons gerados pelos microrganismos são transferidos para o eletrodo do ânodo da CCM por meio de mediadores redox adicionados ao meio líquido. O uso de mediadores exógenos é inviável em CCM em escala real, pois eles precisam ser continuamente fornecidos e podem apresentar características tóxicas aos microrganismos (RINALDI *et al.*, 2008 e OH *et al.*, 2010). Diversos compostos, principalmente a base de fenazina, fenotiazina e fenoxazinas tem sido pesquisados em CCM, como vermelho neutro (RAHIMNEJAD *et al.*, 2011), permangato

de potássio (RAHIMNEJAD *et al.*, 2011), ferricianeto (BIFFINGER *et al.*, 2007), citrato férrico e EDTA férrico (DU *et al.*, 2007).

Quase sempre os microrganismos crescem sob condições em que nem acceptor de elétrons solúvel e nem um acceptor de elétron sólido estão disponíveis, porém outros mecanismos de transferência de elétrons podem ocorrer mediados por metabólitos secundários ou primários.

Na aplicação das CCM, os metabólitos primários e os secundários podem atuar como mediadores redox endógenos e são de grande interesse, pois sua síntese faz a transferência de elétrons independente da presença de mediadores redox exógenos. Os mediadores de elétrons servem como um acceptor de elétrons reversível, porque quando o elétron passa da membrana celular para o mediador, este se reduz; e, quando o mediador entra em contato com a superfície do ânodo, ele se oxida e transfere o elétron para o acceptor sólido, o eletrodo. Desta forma, ele se reoxida e é novamente disponível para os subseqüentes processos de redução – oxidação. Portanto, uma molécula pode servir em vários ciclos redução – oxidação. A pequena produção destes compostos permite que os microrganismos disponham os elétrons em alta velocidade, melhorando a geração de energia elétrica principalmente em CCM operadas em modo descontínuo (*Batch*), uma vez que em sistemas contínuos pode ocorrer perda dos mediadores por arraste (SCHRÖDER, 2007 e LOVELEY, 2008). A Figura 2.6 apresenta a ilustração da transferência mediada de elétrons dos microrganismos ao ânodo da CCM por metabólitos secundários ou mediadores redox endogênicos.

Atualmente, a identificação de compostos mediadores de elétron extracelular parece ser um dos principais desafios para a compreensão deste tipo de mecanismos de transferência de elétron. Somente o envolvimento da psicocianina sintetizada pelas *Pseudomas aeruginosa*, foi provado em CCM (RABEY *et al.*, 2005 e GOMES, 2011). Algumas espécies pertencentes ao gênero *Shewanella* e *Protonotella* podem usar mediadores redox do tipo quinonas para transferir os elétrons dos microrganismos ao ânodo da CCM (RABAEY & VERSTRAETE, 2005 e SCHRÖDER, 2007).



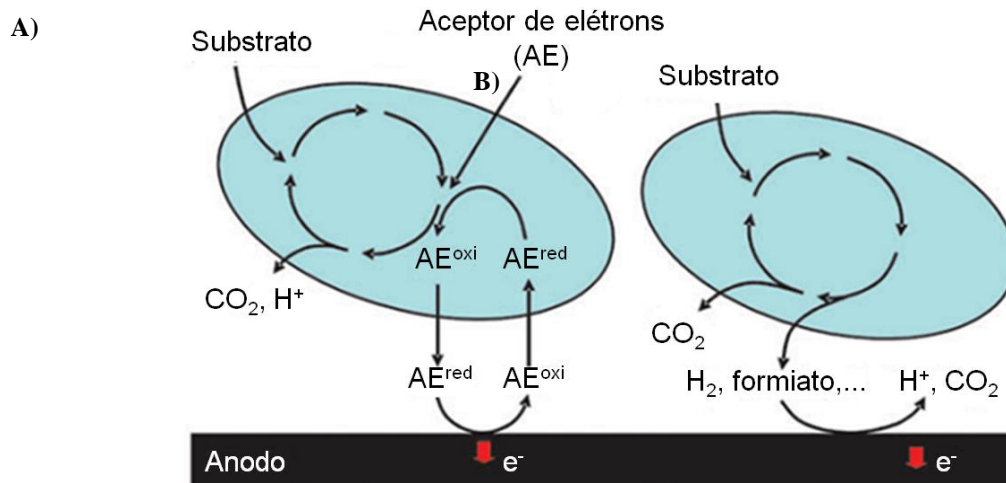
Fonte: Adaptado de SCHRÖDER (2007).

Figura 2.6: Esquema da transferência indireta de elétrons do microrganismo para o eletrodo do ânodo por meio de mediadores redox endógenos, ou por metabólitos secundário. Duas vias possíveis para os mecanismos do processo redox: por citocromo da membrana celular e por via periplasmática.

Diferentemente da transferência de elétrons mediada por metabólitos secundários, a transferência de elétrons mediada por metabólitos primários está intimamente relacionada com a degradação oxidativa do substrato. Para ser usado como agente oxidante na redução do ânodo da CCM, o metabólito tem que ter potencial redox tão negativo quanto possível (mas dentro do limite imposto pelo potencial de oxidação do substratos, ou seja menos negativo do que o substrato). A redução do sulfato e oxidação do sulfeto no eletrodo do ânodo; a oxidação de ferro (II) para ferro (III) na presença de substâncias húmicas; a oxidação de formiato, etanol e hidrogênio no ânodo da CCM podem ser alguns exemplos de utilização de metabólitos primários na transferência de elétrons mediada (RABAEY & VERSTRAETE, 2005 e SCHRÖDER, 2007). A Figura 2.7 apresenta a ilustração da transferência mediada de elétrons dos microrganismos ao eletrodo do ânodo da CCM por metabólitos primários.

2.4 Tipos de Células a Combustível Microbiana

Diferentes configurações de CCM têm sido estudadas visando aperfeiçoar a geração de energia elétrica direta e o tratamento de água residuária. Uma CCM típica consiste de uma câmara anódica separada por uma membrana de íon seletivo como mostrado na Figura 2.1. Com o desenvolvimento da tecnologia, novas configurações surgiram, como as CCM de câmara única, que eliminaram a necessidade da câmara do cátodo, expondo o cátodo diretamente ao ar e as CCM de dois compartimentos sem membrana de íon seletiva.



Fonte: Adaptado de SCHRÖDER (2007).

Figura 2.7: Esquema da transferência indireta de elétrons do microrganismo para o eletrodo do ânodo por meio de metabólitos primários: via aceitor de elétrons usado na digestão anaeróbia, como o sulfato que é reduzido a sulfeto e pode ser oxidado a sulfato ou enxofre elementar em contato com a superfície do eletrodo do ânodo; e via produtos da digestão anaeróbia que são reduzidos na superfície do eletrodo.

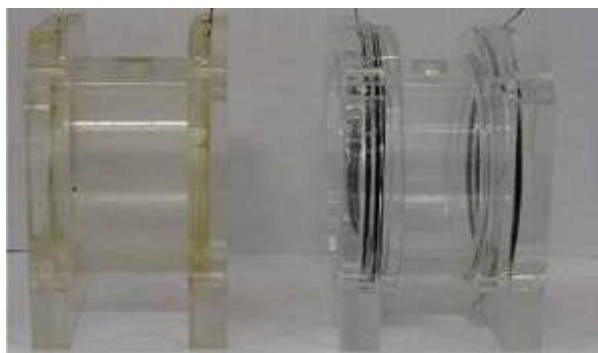
2.4.1 Célula a combustível microbiana de duas câmaras com membrana de íons seletivo

A célula a combustível microbiana de duas câmaras tem uma câmara anódica e uma câmara catódica conectada por membrana de íon seletivo ou ponte salina, que permite o fluxo de prótons para o cátodo enquanto bloqueia a difusão de oxigênio para o ânodo (DU *et al.*, 2007). A Figura 2.1 apresenta o esquema típico de uma CCM de duas câmaras com membrana de íon seletivo. Devido à sua arquitetura complexa de dois compartimentos e aos altos custos operacionais pelo uso da aeração ou de agente oxidante no cátodo, a aplicação deste modelo de CCM em larga escala é inviável. No entanto, essa arquitetura é amplamente usada em pesquisas científicas, pois pode ser operada tanto em modo contínuo quanto em modo descontínuo e, como o ânodo e o cátodo estão separados, podem-se estudar os processos envolvidos em cada compartimento (DU *et al.*, 2007).

2.4.2 Célula a combustível microbiana de câmara única com membrana de íons seletivo

Segundo DU *et al.* (2007), as CCM de câmara única oferecem projeto mais simples e custos inferiores do que as CCM de duas câmaras, pois esse sistema possui somente a câmara do ânodo e não necessita de aeração do compartimento catódico. O cátodo é exposto diretamente ao ar, como mostrado na Figura 2.8, permitindo que o oxigênio disponível no ar seja reduzido como aceitor final de elétrons. Os prótons são transferidos da solução do ânodo

por meio dos poros do eletrodo do cátodo e não há perda de líquido, pois a superfície do eletrodo em contato com ar é recoberta com uma camada hidrofóbica, normalmente Teflon.



Fonte: GOMES (2011).

Figura 2.8: Esquema de uma célula a combustível microbiana (CCM) de câmara única com membrana de íons seletivo.

2.4.3 Célula a combustível microbiana de duas câmaras sem membrana de íons seletivo

As membranas de íon seletivo podem restringir a aplicação da CCM como tecnologia de tratamento de água residuária, devido à colmatção da membrana pelos sólidos suspensos e pelos contaminantes solúveis. Além disso, as membranas de íon seletivo são onerosas, aumentando os custos com o tratamento de resíduos (JANG *et al.*, 2004 e ALDROVANDI *et al.*, 2009). As membranas do tipo Nafion podem custar até U\$1.400 o m² (LOGAN, 2008). Outro efeito adverso do uso das membranas de íon seletivo é no desempenho das CCM, pois, normalmente, elas aumentam a resistência interna, diminuindo a geração de energia elétrica (LOGAN, 2008).

Desta forma, foi proposto o desenvolvimento de CCM sem membrana de íon seletivo que consiste em não separar o ânodo e cátodo, porém, outros tipos de barreiras podem ser usadas para evitar a difusão de oxigênio entre o ânodo e o cátodo, garantindo o gradiente de oxigênio dissolvido para operação adequada da CCM (DU *et al.*, 2007). Esse tipo de arquitetura de CCM foi usado por Jang *et al.* (2004), Aldrovandi *et al.* (2009) e Marcon (2011 e 2015) que diferem quanto ao material usado para separar. Jang *et al.* (2004) que seccionaram o ânodo e o cátodo da CCM com fibra e pérolas de vidro a fim de evitar a difusão de oxigênio dissolvido do cátodo para o ânodo. Marcon (2011 e 2015) usou pedaços de eletroduto flexível corrugado de polipropileno em uma câmara intermediária a fim de se obter o gradiente de oxigênio dissolvido entre os dois compartimentos da CCM. Aldrovandi *et al.* (2009) usaram anteparos para separar os compartimento ao invés da membranas de íon seletivo.

2.5 Condições operacionais

O desempenho das células a combustível microbianas ainda é abaixo do ideal, dificultando a aplicação desta tecnologia em escala real. Para melhorar o desempenho de uma CCM, podem-se aperfeiçoar as condições operacionais, como, temperatura, tempo de detenção hidráulica, material do eletrodo, recirculação de líquido e tempo de retenção celular.

2.5.1 Temperatura

As células a combustível microbianas (CCM) são afetadas pela temperatura de operação, uma vez que mudanças na temperatura podem alterar a cinética, a transferência de massa (energia de ativação, coeficiente de massa, condutividade da solução), a termodinâmica (a energia livre de Gibbs e potencial do eletrodo) e a natureza e distribuição da comunidade microbiana (diferentes espécies apresentam diferentes temperaturas ótimas de crescimento) da CCM (JADHAV & GHANGREKAR, 2009; MIN *et al.*, 2008; AHN & LOGAN, 2010; GUERREIRO *et al.*, 2010; PATIL *et al.*, 2010; BEHERA *et al.*, 2011; WANG *et al.*, 2011; MICHIE *et al.* (2011); TANG *et al.*, 2012; GONZALEZ DEL CAMPO *et al.*, 2013).

Muitos estudos têm sido realizados nos últimos anos e tem-se observado que a temperatura é um fator operacional crucial no desempenho da CCM, pois, tanto a remoção de matéria orgânica quanto a geração de energia elétrica direta, aumentam quando há aumento da temperatura, normalmente até a temperatura ótima de crescimento da comunidade microbiana que pode ser entre 30 - 37°C para comunidades mesofílicas e entre 50 e 60°C para comunidades termofílicas. Guerreiro *et al.* (2010) estudaram o desempenho de uma CCM de câmara única com cátodos de tecido de carbono recobertos com platina (0,3 mg Pt cm⁻²) e ânodo de grafite granular (diâmetro de 2mm) e barras de grafite usando efluente de cervejaria diluída com concentração inicial de matéria orgânica, em termos de DQO, de 1.200 mg L⁻¹ em sete condições de temperatura, 4, 8, 15, 20, 25, 30 e 35°C. Estes autores observaram, que com aumento da temperatura, houve uma maior eficiência de remoção de matéria orgânica (de 58% em 4 °C para 94% em 35 °C) e de geração de densidade de corrente elétrica (de 23,11 mA m⁻² em 4 °C para 93,87 mA m⁻² em 35 °C). O mesmo comportamento foi observado em Behera *et al.* (2011) que operaram CCM de duas câmaras com membrana trocadora de prótons e barras de grafite no ânodo e no cátodo usando água residuária sintética à base de sacarose com DQO de 500 mg L⁻¹. Estes pesquisadores notaram que a eficiência de

remoção de matéria orgânica e a densidade de potência gerada pela CCM aumentaram com o acréscimo da temperatura de 20°C para 40°C (de 62% para 84 % de eficiência de remoção de DQO e de 2,35 para 34,38 mWm⁻², respectivamente). Outros trabalhos realizados observaram o mesmo comportamento, tanto na geração de energia elétrica direta, quanto na remoção de matéria orgânica nesta faixa de temperatura 10 a 40°C (JADHAV& GHANGREKAR, 2009; MIN *et al.*, 2008; AHN & LOGAN, 2010; WANG *et al.*,2011; TANG *et al.*, 2012; GONZALEZ DEL CAMPO *et al.*, 2013).

O aumento da geração de energia elétrica direta com o aumento da temperatura pode estar relacionado com o aumento do metabolismo microbiano, ou com a redução da resistência ôhmica devido ao aumento da condutividade do meio líquido (GUERREIRO *et al.*, 2010; GONZALEZ DEL CAMPO *et al.*, 2013). A resistência ôhmica apresenta uma tendência aproximadamente linear com a temperatura: aumentando a temperatura de operação da CCM há uma diminuição da resistência ôhmica interna, causada pelo aumento da condutividade iônica proporcionado pelo aumento de temperatura (BEHERA *et al.*, 2011 e GONZALEZ DEL CAMPO *et al.*, 2013). Porém, as mudanças nas resistências ôhmicas não são suficientes para explicar as mudanças do desempenho da CCM com a temperatura, uma vez que essas mudanças não são lineares, mas sim exponenciais (MIN *et al.*, 2008; GUERREIRO *et al.*, 2010). A temperatura afeta a atividade dos microrganismos segundo uma tendência exponencial, que, também, é observado na tensão elétrica gerada por uma CCM, devido ao aumento da atividade microbiana (GUERREIRO *et al.*, 2010; PATIL *et al.*, 2010 e WANG *et al.*, 2011).

Palit *et al.* (2010) investigaram a influência da temperatura no desempenho de uma CCM em batelada e observaram que o tempo necessário para se atingir o estado estacionário (quando a energia gerada não oscila significativamente, ou seja, o coeficiente de variação menor que 20%) diminui com o aumento da temperatura. Operando-se a CCM a 23 °C precisou-se de 290 h, enquanto que a 35 °C essa mesma fase durou 85 h. Esses mesmos autores notaram que o biofilme da CCM apresenta sua atividade bioeletrocatalítica máxima em temperaturas entre 30 e 45 °C e concluíram que temperaturas de operação menores ou maiores resultaram em redução do biofilme e do desempenho da CCM devido, respectivamente, às menores velocidades de metabolismo e à desnaturação irreversível que levava à decomposição do biofilme e a inativação da atividade metabólica dos microrganismos (PALIT *et al.*, 2010).

2.5.2 Tempo de detenção hidráulica (TDH)

A operação de CCM em modo contínuo apresenta desafios hidrodinâmicos que podem afetar o desempenho da CCM e o comportamento do biofilme microbiano (LIU & TAY, 2002; MOON *et al.*, 2005, YOU *et al.*, 2006; SHARMA *et al.*, 2010; RAHIMNEJAD *et al.*, 2011; JUANG *et al.*, 2010; WEI *et al.*, 2013; AKMAN *et al.*, 2013 e LI *et al.*, 2013).

O tempo de detenção hidráulica (TDH), que é a relação entre o volume útil do sistema de tratamento e a vazão afluente, e, conseqüentemente, a força de cisalhamento, são importantes parâmetros no tratamento de água residuária, e afetam diretamente o projeto e a operação do processo, os custos de operação e de instalação e a demanda energética dos sistemas de tratamento. Desta forma, o TDH e a força de cisalhamento precisam ser investigados antes da CCM ser utilizada como tecnologia para o tratamento de águas residuárias e geração de energia elétrica direta (AKMAN *et al.*, 2013).

Sharma *et al.* (2010) mostraram que o TDH tem um efeito significativo sobre a geração de eletricidade de uma CCM de câmara única com cátodo exposto ao ar, alimentado com efluente de um biorreator usado para a produção de hidrogênio e com eletrodos de escova de carbono no ânodo e de tecido de carbono recoberto com platina ($0,35 \text{ mg Pt cm}^{-2}$) no cátodo. A densidade de potência no menor TDH de 6,5 h foi de 3872 mW m^{-2} , depois aumentou para 4072 mW m^{-2} com TDH de 13,1 h e diminuiu para 3156 mW m^{-2} com o aumento do TDH para 50 h. A redução do TDH de 50 para 13,1 horas teve efeito positivo na tensão elétrica gerada pela CCM, pois, com o aumento do TDH houve aumento da carga orgânica aplicada, proporcionando melhores cargas orgânicas aplicadas para o processo de geração de energia elétrica direta. No entanto, quando o TDH diminuiu de 13,1 para 6,5 h, observou-se redução da densidade de potência da célula devido ao tempo de contato ser insuficiente entre o biofilme do ânodo e o substrato, não permitindo que os microrganismos degradassem o substrato para geração de energia elétrica direta.

Rahimnejad *et al.* (2011) avaliaram o efeito do TDH no desempenho de uma CCM. Estes pesquisadores testaram o TDH variando entre 3,6 e 26 horas na operação de CCM de duas câmaras com membrana trocadora de prótons, usando placas de grafite e mediadores eletroquímicos no ânodo (vermelho neutro) e permanganato de potássio como oxidante no cátodo. O combustível utilizado para a cultura pura de *Saccharomyces cerevisiae* (PTCC 5269) inoculada na CCM foi água residuária a base de glicose (30 g L^{-1}). Estes autores observaram o mesmo comportamento que Sharma *et al.* (2010). Analisando a curva de polarização de cada um dos TDH, os autores identificaram que, quando o TDH diminuiu de 26 para 6,7 h, houve uma melhor geração de energia elétrica direta, com incremento de 93,8% na

densidade de potência (de 146 mW m^{-2} em 26 h de TDH para 283 mW m^{-2} em 6,7 h de TDH). No entanto, quando o TDH diminuiu de 6,7 para 3,6 horas, observou-se redução de 32% da densidade de potência da célula (de 283 mW m^{-2} em 6,7 h de TDH para 198 mW m^{-2} em 3,6 h de TDH).

A redução do TDH tem, também, efeito adverso na remoção de matéria orgânica e na eficiência Coulombica, que é a relação entre a quantidade de energia do substrato foi direcionada para a geração de energia elétrica direta. Ahn & Logan (2010) examinaram a degradação da matéria orgânica e a produção de energia em CCM de câmara única com cátodo exposto ao ar. Estes autores usaram escova de fibra de grafite como material no ânodo e tecido de carbono recoberto com platina ($0,5 \text{ mg Pt cm}^{-2}$) no cátodo e operaram a CCM com diferentes TDH que variaram de 0,06 a 20,0 h. Estes pesquisadores, observaram que, em geral, elevados TDH (pequenas cargas orgânicas aplicadas) permitiam maiores recuperações de energia e eficiências de remoção da matéria orgânica. Quando a CCM foi operada com TDH de 20 h, a eficiência Coulombica foi superior a 40% e a eficiência de remoção de matéria orgânica foi de 70%. Para o TDH de 1,9 h a eficiência Coulombica foi menor que 7% e a eficiência de remoção de matéria orgânica foi próxima a 50%. Com a redução do TDH, o tempo de contato entre os microrganismos e o substrato diminui, reduzindo a eficiência média de remoção de matéria orgânica da CCM por causa da limitação cinética.

Juang *et al.* (2010) observaram o mesmo comportamento na operação de uma CCM de duas câmaras com membrana trocadora de próton e eletrodos de placa de carbono, inoculado com lodo previamente adaptado em uma CCM por seis meses e alimentado com água residuária sintética a base de glicose ($1,0 \text{ g L}^{-1}$). Com a redução do TDH de 38,3 h para 6,6 h, houve queda na eficiência de remoção de matéria orgânica de 82,3% para 30,3% e na eficiência Coulombica de 0,08% para 0,06%.

O TDH é um fator que influencia a adesão microbiana e a formação do biofilme devido à vazão afluyente, a velocidade ascensional e a força de cisalhamento. Segundo Lay & Tay (2002), altas forças de cisalhamento estão relacionadas com altas vazões, conseqüentemente, baixos TDH e resultam em um biofilme mais fino e denso, para uma CCM com mesma área seccional. Pham *et al.* (2008) estudaram o efeito da força de cisalhamento em uma CCM com placas de grafite como eletrodo e solução de hexacianoferrato de potássio ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) no cátodo. Este pesquisadores observaram, que aumentando a força de cisalhamento, há melhora no desempenho da CCM com aumento da corrente gerada. Operando com gradiente de velocidade de 80 s^{-1} , a corrente foi de 0,16 mA, mas com o aumento do gradiente de velocidade para 120 s^{-1} , a corrente foi de 0,24 mA. Estes mesmos

autores observaram que gradientes superiores a 120 s^{-1} tem efeito adverso na geração de energia elétrica direta, pois a força de cisalhamento foi superior à tensoativa, diminuindo a corrente elétrica e a espessura do biofilme devido à desagregação dos microrganismos. Porém, há ainda poucos estudos que analisam a adesão microbiana nos eletrodos em função do TDH da CCM e, conseqüentemente, da velocidade superficial.

2.5.3 *Material do eletrodo*

O eletrodo determina o desempenho e o custo de instalação da CCM, sendo um componente chave. O projeto do eletrodo é o maior desafio em fazer as CCM uma tecnologia atrativa economicamente e que possa ser aplicada em larga escala (LOGAN, 2008 e RABAEY *et al.*, 2009). Os eletrodos usados nas CCM podem ser classificados em dois grupos: bioeletrodos e eletrodos químicos de acordo com a presença ou não de catalisadores biológicos (WEI *et al.*, 2011).

O material do eletrodo precisa ter algumas características gerais e próprias para que possa ser usado na CCM. Para todos os tipos de eletrodos, o material base deve geralmente ter boa condução elétrica, boa estabilidade química (não sendo degradado durante os processos que ocorrem na CCM), alta resistência mecânica e de baixo custo. Os materiais carbonáceos e metais, que não se corroem, como, placas de grafite, barras, grânulos, material fibroso de carbono (feltro, tecido e papel), carbono vítreo reticulado, aço inoxidável, titânio, podem apresentar basicamente esses requisitos gerais sendo os materiais base mais utilizados (WEI *et al.*, 2011 e LOGAN *et al.*, 2006).

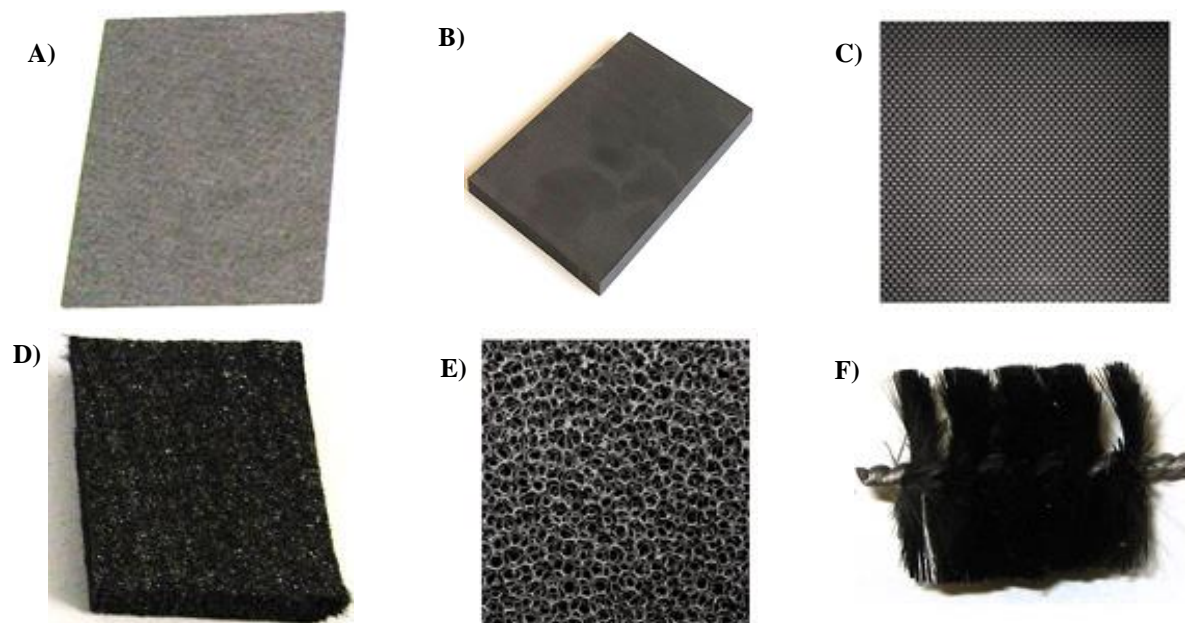
Além disso, há alguns requisitos para cada tipo de eletrodo. Os bioeletrodos funcionam não somente como um condutor elétrico, mas também como material suporte para adesão dos microrganismos e algumas características são essenciais para a alta atividade biocatalítica destes eletrodos como alta rugosidade superficial, boa biocompatibilidade e eficiente transferência de elétrons entre os microrganismos e a superfície do eletrodo.

Os eletrodos químicos usados em células a combustível microbianas com cátodo ao ar com catalisador são compostos de um material base, um catalisador, um meio ligante e uma camada à prova d'água. O material base geralmente serve como um material suporte e coletor de corrente elétrica, assim, alta condutividade e resistência mecânica são cruciais. Os catalisadores são importantes para as células com cátodo ao ar, pois facilitam a redução com o oxigênio do ar, porém não são essenciais. Quando utilizados, os catalisadores são

imobilizados na superfície do material base com a ajuda de um ligante e uma camada hidrofóbica é adicionada para não permitir a perda de água no sistema (WEI *et al.*, 2011).

A configuração dos eletrodos é outro parâmetro que influencia o desempenho e a aplicação da CCM como uma tecnologia viável para o tratamento de águas residuárias e a geração de energia elétrica direta. Os eletrodos utilizados podem ser classificados de acordo com sua configuração em eletrodos planos e tridimensionais.

Os materiais carbonáceos são amplamente usados como eletrodo em CCM, principalmente nos ânodos, por causa da sua boa biocompatibilidade, estabilidade química, alta condutividade e baixo custo. Em escala laboratorial, papel de carbono, placas de grafite e tecido de carbono são os materiais carbonáceos planos mais usados (MIN & LOGAN, 2004; SUN *et al.*, 2010). O papel de carbono (Figura 2.9A) é fino e relativamente rígido, porém frágil. Placas de grafite (Figura 2.9B) tem maior resistência que o papel de carbono. Esses dois materiais tem uma estrutura compacta e uma superfície relativamente lisa, que facilita a quantificação da biomassa por unidade de área superficial. No entanto, a baixa área superficial e o alto custo deste tipo de material impede a aplicação destes eletrodos em larga escala (WEI *et al.*, 2011).



Fonte: Adaptado de WEI *et al.*, 2011

Figura 2.9: Fotografias dos materiais de eletrodo com base de carbono mais usados em CCM: papel de carbono (A), placa de grafite (B), tecido de carbono (C), feltro de carbono (D), carbono vítreo reticulado (RVC, E) e escova de carbono (F).

O tecido de carbono (Figura 2.9C) é mais flexível e poroso que as placas de grafite, permitindo maior área para adesão e crescimento de microrganismos. Porém, o custo

praticamente impede seu uso em CCM (US\$ 300-400 m², para compra nos Estados Unidos e sem considerar os impostos e o frete) (WEI *et al.*, 2011).

O feltro de grafite ou de carbono (Figura 2.9D) é mais espesso que os demais eletrodos carbonáceos, pois é feito a partir de fibra de carbono. Sua textura solta e macia, como uma espuma de poliuretano, confere mais espaço para o crescimento e adesão microbiana do que o tecido e o papel. Um ponto negativo deste eletrodo é que o crescimento microbiano pode ser limitado devido à transferência de massa do substrato do meio líquido para o interior do eletrodo (WEI *et al.*, 2011).

Chaudhuri & Lovley (2003) compararam o feltro, a espuma e a barra de grafite e observaram que a geração de corrente e de biomassa nas barras de grafite e no feltro foram similares; no eletrodo de espuma de grafite, a densidade de corrente e a adesão microbiana foram quase três vezes maiores do que os valores observados usando a barra de grafite.

Outro material bastante utilizado como eletrodo em CCM é o carbono vítreo reticulado (RVC - reticulated vitreous carbon, Figura 2.9E) que apresenta elevada área superficial (51 – 6.070 m² m⁻³) e pode ser encontrado em diferentes porosidades no mercado (>97%) (HE *et al.*, 2005 e WEI *et al.*, 2011). No entanto, a sua fragilidade dificulta o seu uso em larga escala.

A escova de grafite (*brush*, em inglês, Figura 2.9F) é um eletrodo ideal para o ânodo de CCM, uma vez que permite elevada área superficial (7.170 – 18.200 m² m⁻³), alta porosidade (> 95%) e eficiente coleta de corrente elétrica. O uso deste tipo de eletrodo foi relatado por Logan *et al.* (2007) que o construíram a partir de fibras de carbono enroladas em dois fios de titânio não corrosivo e observaram que este eletrodo produziu 1430 mW m⁻², enquanto o eletrodo de papel de carbono gerou 600 mW m⁻², cerca de 60% menos. Essa diferença se justifica, pois a escova de grafite apresenta uma área superficial maior que a do papel de carbono, o que facilita a adesão microbiana e a geração de energia.

Uma opção para aumentar a área superficial dos materiais carbonáceos e melhorar a transferência de elétrons para o eletrodo é realizar pré-tratamento do eletrodo, incorporando camadas de nanogrânulos de carbono e outros materiais, como, manganês (IV), ferro (III), platina e poliaminas (LOGAN *et al.*, 2006).

Muitos estudos envolvendo diferentes materiais de eletrodo de CCM têm focado em maximizar a energia gerada pelo volume da célula ou pela área da membrana de íon seletiva. Porém, poucos estudos relatam a geração de energia pela área de eletrodo, sendo de extrema importância a comparação da geração de energia usando a área de eletrodos não tratados, a fim de tornar viável o uso da tecnologia de CCM na recuperação de energia a partir do tratamento de águas residuárias.

2.6 Considerações finais

As células a combustível microbianas se apresentam como uma tecnologia promissora para converter a energia presente nos compostos orgânicos e inorgânicos das águas residuárias em energia elétrica, visto que sua aplicação pode recuperar energia facilmente, remover poluentes, e, ao mesmo tempo, diminuir os impactos ambientais causados pela demanda energética e pelo lançamento *in natura* de águas residuárias.

Por ser um tema de vanguarda, os trabalhos disponíveis são poucos e a maioria aborda o uso de CCM em bateladas usando membranas de íons seletivo e empregando metais nobres como catalisadores no processo de transferência de elétrons o que encarece a aplicação da CCM como uma tecnologia para o tratamento de água residuárias. Além disso, na literatura não há consenso em relação às condições operacionais (temperatura, TDH, material do eletrodo, tempo de retenção celular, razão de recirculação) da CCM e poucos trabalhos foram realizados com CCM operadas em modo contínuo e semi-contínuo, sem mediadores eletroquímicos e sem metais nobres como catalisadores. Assim, seguindo as linhas de pesquisas de bioenergia realizada no Grupo de Eletroquímica do Instituto de Química de São Carlos – Universidade de São Paulo e no Laboratório Processos Biológicos da Escola de Engenharia de São Carlos – Universidade de São Paulo (LPB-EESC-USP), o objetivo deste trabalho foi estudar as influências das condições operacionais da CCM tanto na remoção de contaminantes presentes nas águas residuárias quanto na geração de energia elétrica direta, a fim de se obter informações que possam ajudar a divulgar essa tecnologia e que ela possa ser aplicada em escala real no tratamento de águas residuárias.

3 Hipóteses e objetivos

3.1 Objetivo geral

Hipótese: Os parâmetros operacionais e as características das águas residuárias influenciam a geração de energia elétrica direta e o tratamento de efluentes em célula a combustível microbiana (CCM).

Objetivo geral: Avaliar o desempenho da CCM em diferentes condições operacionais e com diferentes águas residuárias tanto na remoção de matéria orgânica quanto na geração de energia elétrica direta.

3.2 Objetivos específicos

Sub-Hipótese 1: A operação da célula a combustível microbiana (CCM) sem membrana trocadora de íon seletivo operada em baixo tempo de detenção hidráulica (TDH) apresentará maior geração de energia elétrica e menor remoção de matéria orgânica do que uma mesma célula operada em longo TDH, pois a última condição favorece o uso de elétrons por processos que não geram bioeletricidade, como a metanogênese e a sulfetogênese.

Objetivo 1: Avaliar a influência do TDH no desempenho da CCM sem membrana trocadora de íon seletivo alimentado com água residuária sintética à base de sacarose na remoção de matéria orgânica, na geração de energia elétrica direta, na adesão de microrganismos ao eletrodo e na comunidade microbiana.

Sub-Hipótese 2: A operação da CCM sem membrana trocadora de íon seletivo em condição mesofílica selecionará uma comunidade microbiana com maior diversidade do que uma mesma célula operada em condição termofílica, pois há menos espécies de microrganismos que vivem em condição termofílica do que em condições mesofílicas. Essa maior diversidade de microrganismos em condição mesofílica diminuirá a geração de energia elétrica visto que os elétrons gerados no ânodo da CCM podem ser usados por processos que não estão relacionados com a redução do ânodo, como a metanogêneses e a sulfetogêneses.

Objetivo 2: Estudar a influência das condições mesofílica e termofílica (25°C e 55°C, respectivamente) na comunidade microbiana e no desempenho da CCM sem membrana trocadora de íon seletivo alimentado com água residuária sintética à base de sacarose, na remoção de matéria orgânica e na geração de energia elétrica direta.

Sub-Hipótese 3: A operação da CCM sem membrana trocadora de íon seletivo operada com elevada razão de recirculação no cátodo apresentará maior geração de energia elétrica do que uma mesma célula operada sem recirculação, pois quanto maior a recirculação menor será a concentração de biomassa aderida ao eletrodo e melhor a transferência de massa favorecendo a geração de energia.

Objetivo 3: Avaliar e comparar o efeito de diferentes razões de recirculação aplicada no cátodo (0, 1, 3 e 5) no desempenho da CCM sem membrana trocadora de íon seletivo alimentada com água residuária sintética à base de sacarose, na remoção de matéria orgânica, na geração de energia elétrica direta e na adesão da comunidade microbiana ao eletrodo.

Sub-Hipótese 4: O uso de CCM sem membrana trocadora de íon seletivo operada em condição termofílica no tratamento de vinhaça de cana-de-açúcar pode ser uma alternativa aos tratamentos convencionais por recuperar parte da energia presente na água residuária e pela vinhaça apresentar características de excelente combustível: elevada carga orgânica (10 - 50 g DQO L⁻¹), alta concentração de íons e elevada temperatura.

Objetivo 4: Estudar o desempenho da CCM sem membrana trocadora de íon seletivo operada em condição termofílica usando vinhaça de cana-de-açúcar como combustível na remoção de matéria orgânica e na geração de energia elétrica.

Sub-Hipótese 5: O desbalanceamento das concentrações de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo é o maior problema para o tratamento de águas residuárias da produção de vinho. A suplementação da água residuária de produção de vinho com nitrogênio e fósforo em concentrações adequadas melhora a geração de energia elétrica direta e a remoção de matéria orgânica em CCM de duas câmaras operadas em processo semicontínuo.

Objetivo 5: Estabelecer a melhor relação de carbono, nitrogênio e fósforo na remoção de matéria orgânica e na geração direta de energia elétrica no tratamento de água residuária de produção de vinho em CCM de duas câmaras operadas em processo semicontínuo em condição mesofílica.

Sub-Hipótese 6: O tempo de retenção celular (TRC) é um parâmetro capaz de selecionar os microrganismos bioeletrogênicos, fazendo com que o desempenho da CCM de duas câmaras operadas em processo semicontínuo seja afetado tanto na remoção de matéria orgânica quanto na geração de energia elétrica.

Objetivo 6: Avaliar o efeito do TRC e estabelecer o melhor TRC na remoção de matéria orgânica e na geração direta de energia elétrica no tratamento de água residuária de produção de vinho em CCM de duas câmaras operadas em processo semicontínuo em condição mesofílica.

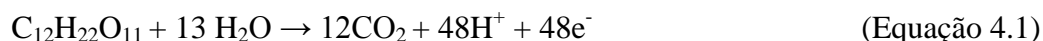
Sub-Hipótese 7: O material do eletrodo utilizado influencia a adesão microbiana no ânodo da CCM e o desempenho da CCM de duas câmaras em processo semicontínuo é afetado tanto na remoção de matéria orgânica quanto na geração de energia elétrica.

Objetivo 7: Avaliar a influência do material de eletrodo e estabelecer o melhor material de eletrodo na remoção de matéria orgânica e na geração de energia elétrica no tratamento de água residuária de produção de vinho em CCM de duas câmaras operadas em processo semicontínuo.

4 INFLUÊNCIA DO TEMPO DE DETENÇÃO HIDRÁULICA (TDH) E DAS CONDIÇÕES MESOFÍLICAS E TERMOFÍLICAS DE TEMPERATURA NO DESEMPENHO DE CÉLULA A COMBUSTÍVEL MICROBIANA SEM MEMBRANA DE ÍON SELETIVA

4.1 Introdução

As células a combustível microbianas (CCM) são dispositivos bioeletroquímicos que convertem a energia química de um substrato (matéria orgânica) em energia elétrica por meio de reações catalíticas de microrganismos. A Equação 4.1 apresenta a degradação da sacarose no ânodo produzindo elétrons e prótons. Os elétrons atravessaram um circuito elétrico até o cátodo, onde eles reduziram um aceptor com alto potencial redox. Para manter a neutralidade de cargas na célula a combustível, os prótons passam do ânodo para o cátodo através do meio líquido ou de uma membrana de íon seletiva. A Equação 4.2 apresenta a reação entre os prótons, elétrons e o oxigênio, o aceptor de elétrons mais usado nas CCM. Essa transferência de íons, elétrons e a diferença de potencial entre o ânodo e cátodo gera energia elétrica (RABAEY & VERSTRAETE, 2005; LOGAN *et al.*, 2006 e YOU *et al.*, 2006). De acordo com Logan *et al.* (2006), as CCM são uma alternativa interessante visto que conseguem simultaneamente tratar água residuária e gerar energia elétrica direta sem a necessidade um mediador.



No entanto, alguns entraves existem para o uso da CCM no tratamento de águas residuárias. As membranas de íons seletivos podem limitar a aplicação da CCM devido ao processo de colmatação da membrana especialmente se as CCM usarem como combustível água residuária com alta concentração de material particulado, como o esgoto sanitário e a vinhaça da cana-de-açúcar. Além disso, as membranas de íon seletivo são caras, aumentando

os custos com o tratamento. Elas também podem aumentar a resistência interna das CCM, que diminuí transferência de prótons do ânodo para o cátodo e, conseqüentemente, a geração de energia (JANG *et al.*, 2004). Então, o desenvolvimento de um CCM sem membrana de íon seletivo pode diminuir a resistência interna e aumentar a geração de energia elétrica direta.

Muitos estudos na literatura têm relatado que as condições operacionais (como tempo de detenção hidráulica – TDH e temperatura, por exemplo) afetam a geração de energia direta, porém a influência destes parâmetros em uma CCM sem membrana de íon seletivo não foi ainda estudado (YOU *et al.*, 2006; LARROSA-GUERRERO *et al.*, 2010; PATIL *et al.*, 2010; RAHIMNEJAD *et al.*, 2011; AKMAN *et al.*, 2013; GONZALO DEL CAMPO *et al.*, 2013; LI *et al.*, 2013; WEI *et al.*, 2013). Além disso, poucos artigos relacionam o crescimento do biofilme aderido, as comunidades microbianas e a geração de energia nas CCM. Neste contexto, o objetivo desta etapa foi investigar a influência de diferentes TDH e das condições mesofílicas e termofílicas de temperatura (25°C e 55°C, respectivamente) na remoção de matéria orgânica e na geração de energia elétrica direta em CCM sem membrana de íon seletiva. Além disso, avaliou-se o crescimento dos microrganismos aderidos ao eletrodo e a comunidade microbiana presente no final da operação da CCM.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Célula a combustível microbiana (CCM)

As CCM foram construídas em acrílico com a seguinte configuração: 4,0 cm de diâmetro interno e 18,0 cm de comprimento (Figura 4.1). Os volumes total e útil da CCM foram de 160 mL e 120 mL, respectivamente. A CCM foi separada em três câmaras: o ânodo (câmara anaeróbia), a zona intermediária e o cátodo (câmara aeróbia) com volumes úteis de 67,0, 6,0 e 47,0 mL, respectivamente. A zona intermediária entre o ânodo e o cátodo foi preenchida com pérolas de vidro de 5 mm de diâmetro (Sigma-Aldrich®) apoiadas em uma pequena grade de inox com abertura de 2 mm presas nos flanges da CCM para atuar como barreira física para dificultar a difusão do oxigênio da câmara aeróbia (cátodo) para a câmara anaeróbia (ânodo) (JANG *et al.*, 2004 e WANG *et al.*, 2013). As CCM foram alimentadas com o fluxo ascensional. Na câmara do cátodo (aeróbia), foi usado um aerador de aquário com difusor de microbolhas conectado na extremidade da mangueira de saída que fornecia 3,5 L ar min⁻¹.

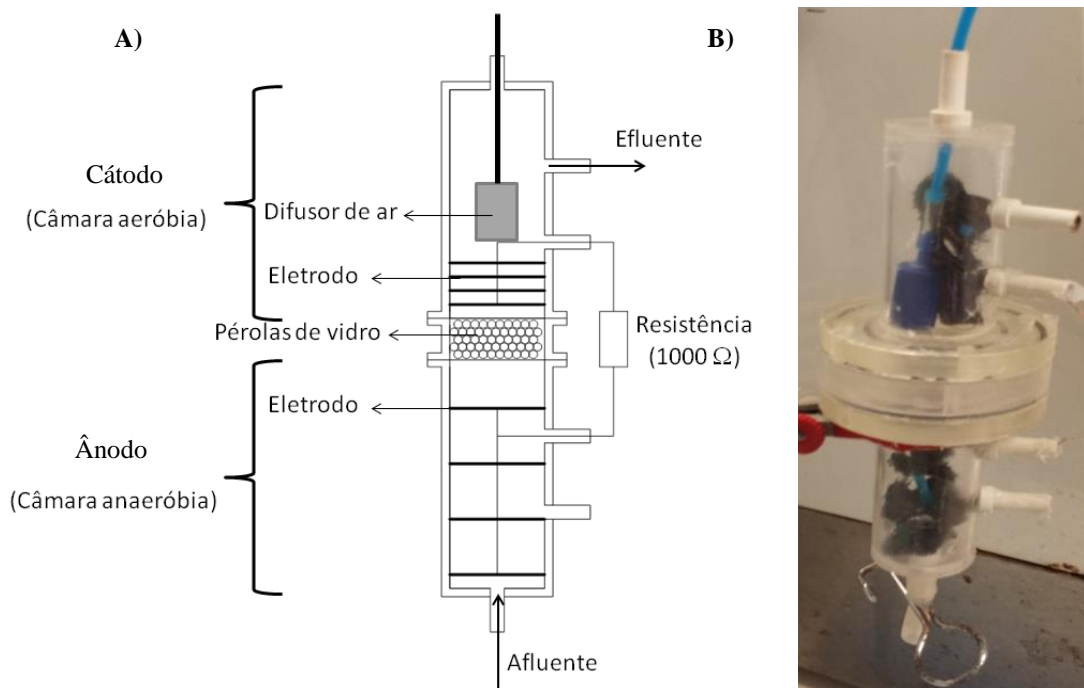


Figura 4.1: Esquema (A) e foto (B) da célula a combustível microbiana (CCM) usada.

Os eletrodos utilizados para o cátodo e para o ânodo foram tecidos de carbono (PW3, Panex[®], Zoltek[®]) e não foram recobertos com nenhuma substância que pudesse melhorar a transferência de elétrons dos microrganismos para o eletrodo ou que melhorasse a redução do oxigênio no cátodo. As características do tecido de carbono estão apresentadas na Tabela 4.1. Os tecidos de carbono foram tratados sequencialmente a 450 °C por 1 hora e em seguida mergulhados por 24 horas em solução de ácido nítrico de 25% (v/v) para remover qualquer remanescente de microrganismos e de gordura. Foram utilizados 4 eletrodos (7,06 cm² de área cada eletrodo) em cada um dos compartimentos e fios de aço inoxidável para uni-los. Para que se obtivesse uma distribuição uniforme dos eletrodos, foi usado o espaçamento de 2,0 e 0,5 cm para o ânodo e para o cátodo (Figura 4.2). Uma resistência externa de 1000 Ω foi usada nas CCM, ligando o ânodo e o cátodo.

Tabela 4.1: Características do tecido de carbono usado como eletrodo na CCM de duas câmaras sem membrana de íon seletivo.

Parâmetros	Tecido de carbono
Área específica (m ² g ⁻¹)	31,3
Densidade superficial de massa (g m ⁻²)	120
Densidade superficial de área específica (m ² m ⁻²)	3500
Porosidade (%)	90
Rugosidade (µm)	15

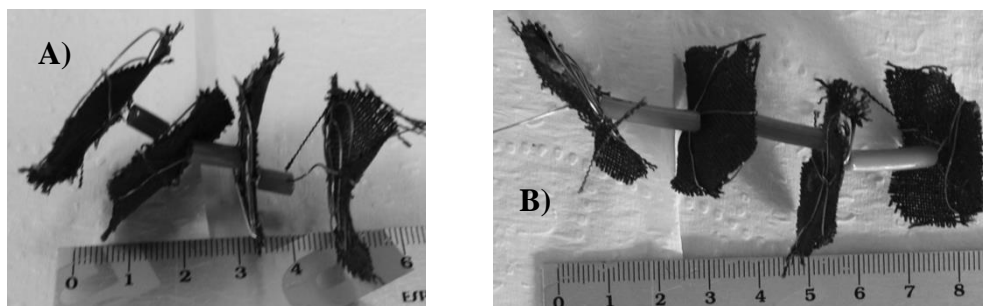


Figura 4.2: Tecido de carbono usado como eletrodo e material suporte da CCM no cátodo com espaçamento de 0,5 cm entre os discos (A) e no ânodo com espaçamento de 2,0 cm entre os discos (B).

4.2.2 Água residuária

Na Tabela 4.2, está apresentada a composição da água residuária sintética usada constituída de 4000 mg L⁻¹ de DQO e uma relação de carbono, nitrogênio e fósforo (C:N:P) de 70:4,5:1. Ácido clorídrico (0,25 mL - 12 N) e bicarbonato de sódio (1000 mg L⁻¹) foram adicionados para ajustar o pH inicial a 6,5 (FONTES LIMA & ZAIAT, 2012 com modificações).

Tabela 4.2: Caracterização do efluente sintético utilizado a base de sacarose constituída de 4000 mg L⁻¹ de DQO.

Composição	Concentração (mg L ⁻¹)
Sacarose (C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁)	3571,4
Ureia (CH ₄ N ₂ O)	250,0
Bicarbonato de sódio (NaHCO ₃)	1000,0
Óxido de selênio (SeO ₂)	0,34
Fosfato de potássio monobásico (KH ₂ PO ₄)	170,0
Fosfato de potássio dibásico (K ₂ HPO ₄)	43,4
Fosfato de sódio dibásico (Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O)	66,8
Cloreto de cálcio (CaCl ₂)	94,0
Sulfato de níquel (NiSO ₄ .6H ₂ O)	3,4
Sulfato ferroso (FeSO ₄ .7H ₂ O)	18,3
Cloreto férrico (FeCl ₃ .6H ₂ O)	1,6
Cloreto de Cobalto (CoCl ₂ .2H ₂ O)	1,6

Fonte: (FONTES LIMA & ZAIAT, 2012 com modificações)

4.2.3 Inóculo

O lodo anaeróbio mesofílico proveniente de reator anaeróbio de manta de lodo aplicado ao tratamento de águas residuárias de abatedouro de aves (Avícola Dacar S/A, Tiête, SP) foi usado como inóculo no ânodo da CCM. As concentrações de sólidos totais e de sólidos suspensos voláteis são 50,1 e 39,0 g L⁻¹. O mesmo inóculo foi usado tanto nas

condições mesofílicas quanto nas termofílicas, com o objetivo de fornecer as mesmas condições microbiológicas no início da operação e que o inóculo não fosse outra variável.

Para a inoculação, foi preparada uma solução contendo 30% (v/v) do inóculo e o restante da solução era água residuária sintética descrita no item anterior. Essa solução ficou em contato com os eletrodos do ânodo por 24 horas e depois foi descartada e iniciou-se a operação contínua da CCM. No cátodo não foi usado inóculo.

4.2.4 Métodos de análises

Para avaliar o desempenho da CCM e monitorar o processo, durante o experimento foram realizadas análises e exames no afluente e efluente da CCM. Na Tabela 4.3, estão apresentadas as análises, as metodologias aplicadas e a frequência.

Tabela 4.3: Análise, metodologia e frequência dos parâmetros operacionais

Análises	Metodologia	Frequência
Demanda Química de Oxigênio (DQO)	Titulométrico (APHA, 2005)	4 vezes por semana
pH	Potenciométrico (APHA, 2005)	4 vezes por semana
Condutividade	Potenciométrico (APHA, 2005)	4 vezes por semana
Ácidos orgânicos, álcoois e carboidratos	Cromatografia líquida de alta eficiência (PENTEADO, 2012)	4 vezes por semana
Temperatura	Termométrico (APHA, 2005)	Diário

Quando se desmontava uma CCM, desprendia-se a biomassa com água deionizada para realizar a quantificação de biomassa aderida (B.A.) por meio da série de sólidos (APHA, 2005). Media-se o volume de água deionizada usado e determinava-se a quantidade de biomassa aderida pela área de eletrodo de acordo com a Equação 4.3 Além disso, quantificou-se a biomassa suspensa em cada um dos compartimentos do reator.

$$B.A = \frac{STV_{aderido} V_{\text{água deionizada}}}{A_{\text{eletrodo}}} \quad (\text{Equação 4.3})$$

B.A: a concentração de biomassa aderida aos eletrodos (mg STV cm⁻²)

STV aderido: a concentração de sólidos totais voláteis no líquido do lavado (mg STV L⁻¹)

V_{água deionizada}: volume de água deionizado gasto para despendar a biomassa (L)

A_{eletrodo}: área do eletrodo do qual a biomassa foi desprendida (cm²)

As CCM foram monitoradas seis vezes por dia quanto à geração de energia elétrica. A tensão elétrica foi medida por meio de um multímetro digital (Minipa[®]). A corrente foi calculada pela lei de Ohm (Equação 4.4).

$$I = \frac{U}{R} \quad (\text{Equação 4.4})$$

I: corrente elétrica (mA)

U: a tensão elétrica (mV)

R é resistência do circuito elétrico externa (Ω)

A corrente elétrica estequiométrica máxima ($I_{\text{teórico}}$) que pode ser obtida a partir da oxidação da matéria orgânica (medida como demanda química de oxigênio, DQO) pode ser calculada pela Equação 4.5 (RODRIGO *et al.*, 2009; LOGAN *et al.*, 2006).

$$I_{\text{teórico}} = \frac{n F Q (S_0 - S)}{MM} \quad (\text{Equação 4.5})$$

$I_{\text{teórico}}$: corrente elétrica teórica que pode ser obtida a partir da oxidação da DQO (mA)

n: número estequiométrico de oxidação da DQO ($4 \text{ mmol e}^- \text{ mmol}^{-1} \text{ O}_2$)

F: constante de Faraday ($96500 \text{ mC mmol}^{-1} \text{ e}^-$)

Q: vazão afluyente (L s^{-1})

S_0 : Concentração da DQO afluyente ($\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$)

S: Concentração da DQO efluente ($\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$)

MM: massa molecular do oxigênio (32 mg mmol^{-1})

A partir deste valor, pode ser calculada a Eficiência Coulombica (EC), que é definida como a razão entre os elétrons do substrato realmente transferidos para o ânodo e o máximo de elétrons que poderiam ser transferidos se todo o substrato fosse usado para a geração de corrente elétrica, ou seja, é a razão entre a corrente elétrica gerada pela CCM e a corrente elétrica estequiométrica máxima. A Equação 4.6 apresenta o cálculo da Eficiência Coulombica (EC).

$$EC = \frac{I}{I_{\text{teórico}}} \quad (\text{Equação 4.6})$$

4.2.5 Operação do sistema

Foram montadas 7 CCM e incubadas a 25 °C para condição mesofílica e a 55 °C para condição termofílica e operadas com diferentes tempos de detenção hidráulica: 2, 4, 8 e 24 h para avaliar a influência do tempo de detenção hidráulica (TDH) e da temperatura no desempenho da CCM, na adesão microbiana nos eletrodos usados como material suporte e na comunidade microbiana. As características de cada uma das condições estão descritas na Tabela 4.4.

Tabela 4.4: Condição de operação das CCM para avaliar a influência do TDH e da temperatura de operação.

Condição	1	2	3	4	5	6	7	8
Temperatura	Mesofílica (25 °C)				Termofílica (55 °C)			
TDH total (h)	2	4	8	24	2	4	8	24
TDH no ânodo (h)	1,12	2,23	4,47	13,4	1,12	2,23	4,47	13,4
TDH na zona intermediária (h)	0,1	0,2	0,4	1,2	0,1	0,2	0,4	1,2
TDH no cátodo (h)	0,78	1,57	3,13	9,4	0,78	1,57	3,13	9,4
Vazão (mL h ⁻¹)	60	30	15	5	60	30	15	5
Velocidade Ascensional (cm h ⁻¹)	6,24	3,12	1,56	0,52	6,24	3,12	1,56	0,52
Carga Orgânica Volumétrica (kg m ⁻³ d ⁻¹)	48	24,0	12,0	4,0	48	24,0	12,0	4,0

Durante 43 dias, avaliou se o desempenho com relação à remoção da matéria orgânica e à geração de energia elétrica direta em cada umas das condições apresentadas na Tabela 3. No 3°, 7°, 14°, 21°, 28°, 35° e 43° dias, uma CCM foi retirada do sistema para avaliar o desenvolvimento do biofilme microbiano através da análise da série de sólidos. No final de cada operação, foram coletadas amostras da comunidade microbiana para avaliar a influência das condições de operação na seleção dos microrganismos.

4.2.6 Avaliação da comunidade microbiana

4.2.6.1 PCR-DGGE

As comunidades microbianas foram coletadas no cátodo e no ânodo no final da operação de cada condição da CCM e foram avaliadas usando a técnica de eletroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE – denaturing gradient gel electrophoresis).

As amostras de biomassas foram lavadas por 3 vezes com solução tampão fosfato e centrifugada a 4 °C por 6000 rpm durante 10 minutos. Depois da lavagem das amostras

prosseguiu-se a extração do DNA genômico dos *pellets* utilizando o procedimento de Griffiths *et al.* (2000) modificado.

Em 0,5 g do *pellet*, adicionou-se 0,3 g de pérolas de vidro (150 – 212 μm); 1 mL de tampão PBS; 1 mL de fenol tamponado equilibrado com Tris e 1 mL de clorofórmio, seguiu-se a homogeneização em vórtex por 30 segundos e centrifugação a 6000 rpm por 10 minutos a temperatura de 4°C. Após a centrifugação, foram transferidos aproximadamente 750 μL do sobrenadante para um tubo eppendorf e adicionou-se a mesma quantidade de fenol. O tubo foi submetido à agitação em vórtex até a formação de uma emulsão e centrifugado sob as mesmas condições acima mencionadas. Repetiu-se a transferência do sobrenadante com os volumes de 500 e 300 μL a fim de reduzir os contaminantes das amostras. Entretanto, ao invés de acrescentar à solução de fenol, foi adicionado o mesmo volume de clorofórmio. Por fim, aproximadamente 100 μL do sobrenadante foram transferidos para outro tubo eppendorf e armazenados a – 20°C.

Para o DGGE do domínio Bacteria utilizou-se o conjunto de primers o 968 FGC e 1401 R (NUBEL *et al.*, 1996). A amplificação do material genético pela reação em cadeia de polimerase (PCR – *polymerase chain reaction*) foi realizada com pré-desnaturação inicial a 95 °C por 5 minutos e com 30 ciclos de desnaturação a 95 °C por 45 segundos, anelamento a 95 °C por 45 segundos e extensão a 72 °C por 1 minuto e extensão final a 72 °C por 5 minutos e resfriamento a 4 °C.

Os produtos da PCR foram aplicados em gel de poliacrilamida 8% (massa/volume) em solução TAE (1X) com gradiente linear desnaturante (ureia e formamida) variando de 45% e 65%. As condições da eletroforese foram 75 V por 16 horas a 60 °C. Em seguida, o gel foi corado em solução de brometo de etídio por 15 minutos; lavado com água Milli-Q por 5 minutos; e exposto a 254 nm UV para foto documentação por meio da câmara de transiluminador UV (Stratagene – Eagle Eye II).

O perfil de DGGE foi analisado no software Bionumerics 2.5. O coeficiente de similaridade e o dendograma foram determinados usando o coeficiente de Jaccard e UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic averages), respectivamente.

4.2.6.2 Sequenciamento Massivo

As comunidades microbianas coletadas no cátodo e no ânodo no final da operação de das CCM operada com TDH de 4 h e em condições mesofílica e termofílica foram avaliadas usando a técnica de sequenciamento massivo do gene 16S rRNA usando a plataforma

Illumina, 2x250 ciclos. Desta maneira, quatro amostras foram sequenciadas: do cátodo mesofílico (MC), do cátodo termofílico (TC), do ânodo mesofílico (MA) e do ânodo termofílico (TA).

O sequenciamento foi realizado no gene 16 S rRNA das regiões V3 e V4 com os set primer 341F (5' - **CCTACGGGNGGCWGCAG** - 3') e o 785R (5' - **GACTACHVGGGTATCTAATCC** - 3') (KLINDWORTH *et al.*, 2013).

A etapa de obtenção dos dados brutos é feita pelo software CASAVA 1.8.2 fornecido pela Illumina, que faz o base call dos dados brutos e os transforma em reads no formato fastq acompanhados dos scores de qualidade phred. Os reads foram visualizados utilizando o programa FastQC (www.bioinformatics.bbsrc.ac.uk/projects/).

A filtragem dos reads de baixa qualidade, sequências de adaptadores e vetores foi realizada pelo programa Seqclean (<https://bitbucket.org/izhbannikov/seqclean>), utilizando como critério de corte de bases com qualidade inferior a 24. A UNIVECTOR (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/VecScreen/UniVec.html>) foi a base de dados usada para remoção dos vetores contaminantes. Após a filtragem, reads com tamanho inferior a 65 pares de base foram removidos.

As sequências foram alinhadas usando o Pynast (CAPORASO *et al.*, 2010) e as unidades taxonômicas operacionais (*operational taxonomic unit*, OTU) foram determinadas usando 97% de coeficiente de similaridade da sequência. A base de dados Ribosomal Database Project (RDP) foi usada para a classificação taxonômica com coeficiente de confiança de 80% para o nível de gênero e de 50% para o nível de filo (COLE *et al.*, 2014).

Os dados do sequenciamento foram normalizados usando o algoritmo do QIIME antes da análise de diversidade e da comparação da abundância relativa de cada comunidade microbiana.

Os parâmetros de alfa e beta diversidade foram analisados usando o software Past (HAMMER *et al.*, 2001). Os parâmetros de alfa diversidade demonstram a diversidade de uma amostra (intra-amostral) e avaliam a riqueza da amostra pela quantidade de espécies presentes (índice de Chao) e a uniformidade da amostra (índice de Shannon e índice de dominância-D). O método do Bray-Curtis foi usado para estimar a beta diversidade de todas as amostras sequenciadas.

Além disso, o software Statistical Analyses of Metagenomic Profiles (STAMP) v 2.0.9 foi usado para detectar diferenças estatisticamente relevantes na abundância relativa dos gêneros presentes entre as quatro amostras sequenciadas. Como recomendado pelos programadores do programa STAMP, a diferença significativa entre as amostras foi avaliada

pelo teste exato de Fisher comparando as amostra do mesmo compartimento submetido as condições mesofílica e termofílica (PARK *et al.*, 2014). As taxonomias mais importantes foram selecionadas por filtração do q-valor (p-valor >0,05).

4.2.7 Tratamento estatístico

Realizou-se o teste estatístico de normalidade de D'Agostino com p-valor igual a 0,05 usando o programa BioEstat[®] para determinar se os dados seguem a distribuição normal e se são paramétricos. Adotou-se este método, pois se trata de um teste para pequenos conjuntos de dados, mas cuja quantidade de dados a ser analisada é igual ou superior a dez (10) unidades. A hipótese de nulidade, que os dados são paramétricos, deve ser rejeitada quando o valor calculado é menor ou igual ao valor crítico mínimo ou igual ou maior ao valor crítico máximo.

Para os parâmetros que em todas as condições são consideradas paramétricas usou-se o teste de hipótese ANOVA de um critério para verificar se os conjuntos de dados das diferentes operações poderiam ser considerados iguais ou não com nível de significância de 5%. Quando houve uma ou mais condições de operação da CCM que não poderiam ser consideradas com distribuição normal, ou seja, não paramétricos, utilizou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis de comparação múltipla de amostras independentes para verificar se os conjuntos de dados das diferentes operações poderiam ser considerados iguais com nível de significância de 5%.

4.3 Resultados e Discussão

4.3.1 Remoção de matéria orgânica

A temperatura e o tempo de detenção hidráulica (TDH) afetaram a remoção de matéria orgânica pela célula a combustível microbiana (CCM), como pode ser observado na Tabela 4.5. A CCM operada a 25°C com TDH de 24 h atingiu a maior eficiência de remoção de DQO (92%). Por outro lado, a CCM operada a 55°C com 2 h de TDH apresentou os menores valores de eficiência de remoção de matéria orgânica (36%). Nas Figuras 4.3 e 4.4, os perfis temporais da DQO efluente e da eficiência de remoção de matéria orgânica (ξ_{DQO}) das CCM operadas em diferentes TDH e temperaturas estão apresentados.

A DQO efluente e a eficiência de remoção da matéria orgânica foram instáveis até o 20º dia de operação em todas as condições estudadas, como pode ser observado nas Figuras 4.3 e 4.4. Essa instabilidade na concentração efluente de DQO e na eficiência de remoção da matéria orgânica pode ser explicada tendo em conta que os microrganismos necessitam de um determinado período de tempo para se adaptar às condições operacionais antes de se atingir o estado estacionário. Depois deste período, a CCM atingiu o estado estacionário em termos da concentração efluente de DQO e de eficiência de remoção de matéria orgânica (o coeficiente de variação foi inferior a 10%).

Tabela 4.5: Valores médios da concentração efluente de DQO e da eficiência de remoção de DQO (ξ_{DQO}) em todo o período experimental (PE) e no período de estado estacionário (*steady-state*, PS) nas condições mesofílicas e termofílicas nos diferentes TDH estudados.

Condições de operação		ξ_{DQO} (%)		DQO efluente (mg L ⁻¹)	
Temperatura	TDH (h)	PE	PS	PE	PS
Mesofílico (25°C)	2	42 ± 10	46 ± 3	2284 ± 254	2161 ± 54
	4	54 ± 7	56 ± 2	1789 ± 271	1652 ± 31
	8	66 ± 7	71 ± 2	1339 ± 237	1195 ± 68
	24	92 ± 1	92 ± 0	335 ± 33	325 ± 15
Termofílico (55°C)	2	31 ± 9	36 ± 2	2688 ± 300	2529 ± 36
	4	38 ± 5	40 ± 4	2411 ± 154	2316 ± 25
	8	54 ± 5	57 ± 2	1833 ± 164	1765 ± 32
	24	68 ± 7	72 ± 2	1293 ± 258	1147 ± 33

Como esperado, a eficiência de remoção de DQO aumentou com o TDH. Longos TDH permitiram maiores tempos para a oxidação completa da matéria orgânica pelos microrganismos. A DQO efluente diminuiu ao longo da faixa de TDH testada de 2160 para 330 mg L⁻¹ e de 2530 para 1150 mg L⁻¹, em condições mesofílicas e termofílicas, respectivamente, quando o TDH passou de 2 para 24 h. Do mesmo modo, em condições mesofílicas, a eficiência média aumentou de 46% para 92% quando o tempo de detenção hidráulica aumentou de 2 horas para 24 horas e para as condições termofílicas, a eficiência média aumentou de 36% para 72% quando o tempo de detenção hidráulica passou de 2 horas para 24 horas (Tabela 4.5).

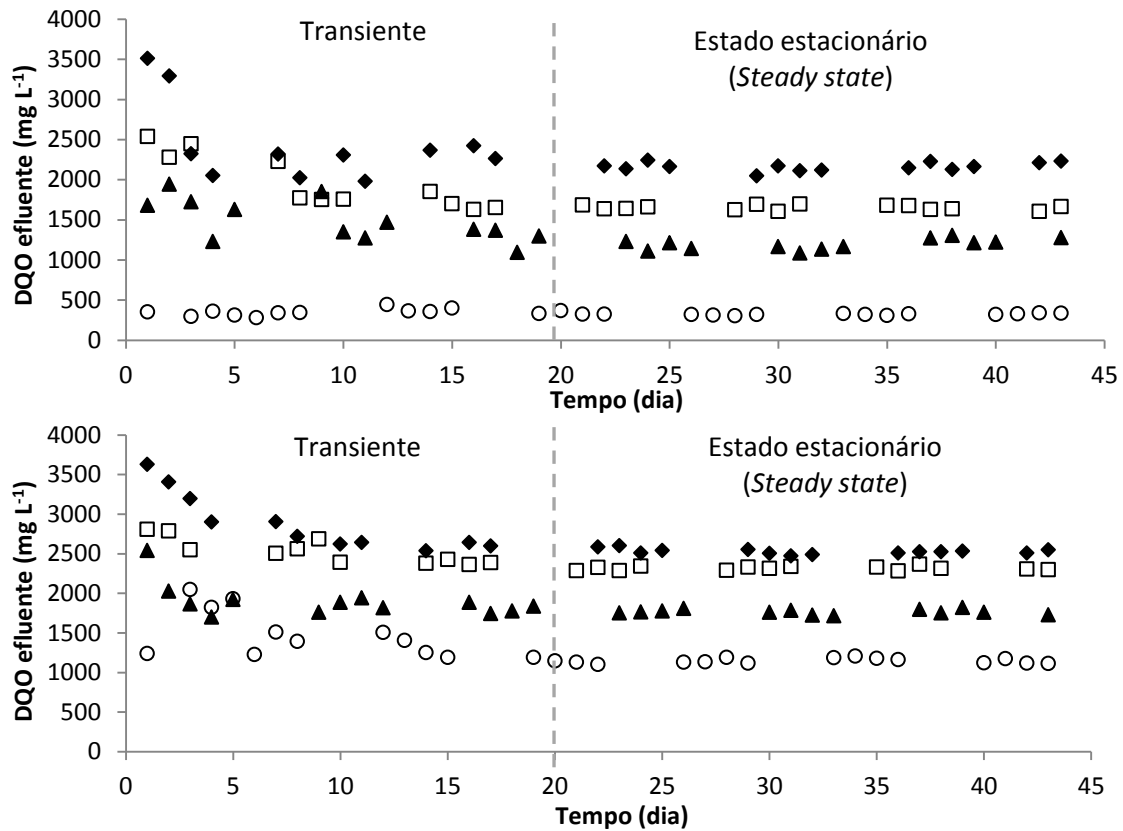


Figura 4.3: Variação temporal da concentração da matéria orgânica efluente (DQO_{efluente}) em condições mesofílicas (25°C , A) e termofílica (55°C , B) em diferentes TDH: 2 (◆), 4 (□), 8 (▲) e 24 (○) h.

Este resultado está de acordo com os obtidos por You *et al.* (2006) e Wei *et al.* (2013) que utilizaram outras configurações de CCM. You *et al.* (2006) observaram que o aumento do TDH de 2 para 30 horas em uma CCM tratando esgoto sanitário proporcionou aumento da eficiência de remoção de DQO, de 71% para 91,5%. Wei *et al.* (2013) observaram o dobro de eficiência de remoção de açúcares solúveis quando o TDH da CCM passou de 4 para 24 horas (de 45% para 92%).

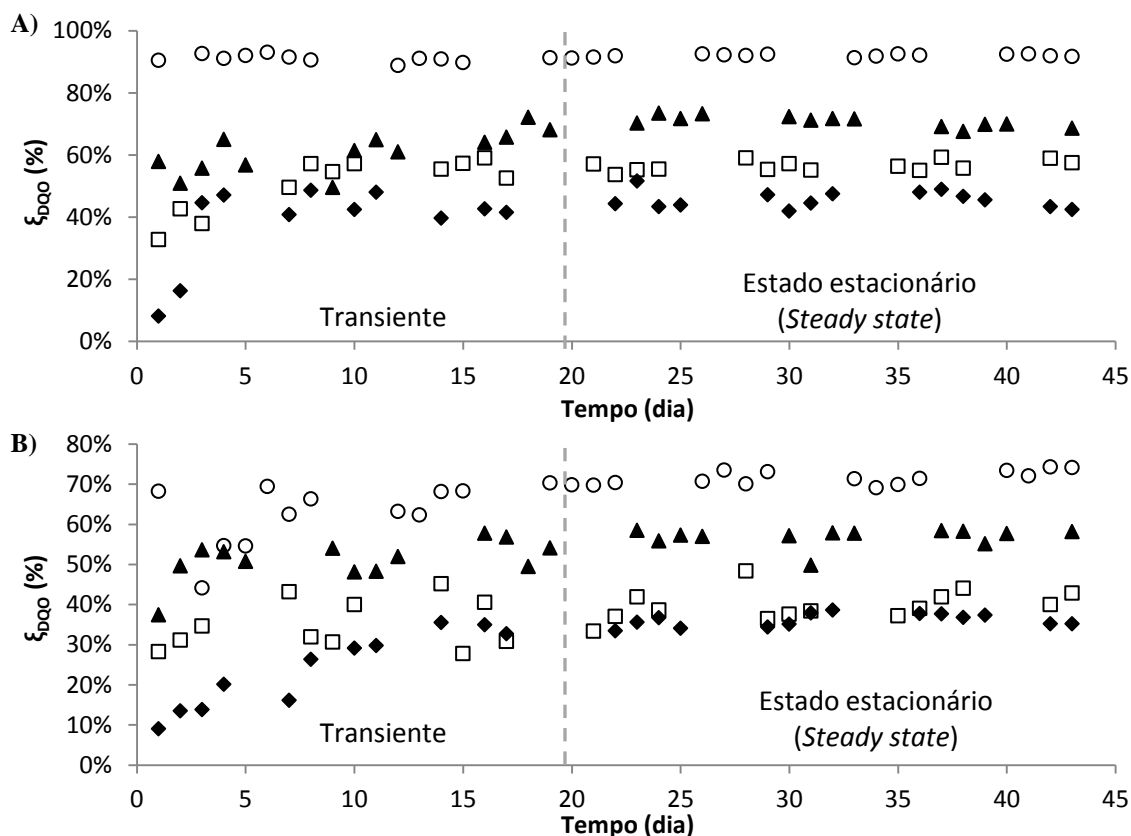


Figura 4.4: Variação temporal da eficiência de remoção da matéria orgânica (ξ_{DQO}) em condições mesofílicas (25°C, A) e termofílica (55°C, B) em diferentes TDH: 2 (◆), 4 (□), 8 (▲) e 24 (○) h.

A eficiência de remoção de DQO em condições termofílicas foi até 21% menor do que as observadas em condições mesofílicas (Tabela 4.5). Essa diferença na remoção de matéria orgânica nas diferentes temperaturas de operação é uma consequência da cinética de consumo de matéria orgânica. Considerando a CCM como um reator pistonado, em regime permanente, isto é, em que o acúmulo é igual zero, o sistema é isotérmico e a cinética de consumo de matéria orgânica (como DQO) como de primeira ordem, o coeficiente cinético aparente obtido em condições mesofílicas foi duas vezes maior que o obtido em condições termofílicas (Figura 4.5, $0,083 \text{ h}^{-1}$ e $0,035 \text{ h}^{-1}$, respectivamente). Essa diminuição da eficiência de remoção de matéria orgânica em altas temperaturas pode ser justificada pelo inóculo utilizado ser proveniente de um reator anaeróbico de manta de lodo (UASB) operado à temperatura ambiente (próximo a 25°C). Assim, os microrganismos estavam mais adaptados às condições mesofílicas que às condições termofílicas, diminuindo a eficiência de remoção da matéria orgânica à 55°C (DÖLL & FORESTI, 2010). Segundo Patil *et al.* (2010), a menor eficiência de remoção de matéria orgânica em condições termofílicas se deve ao processo de desnaturação de enzimas de alguns microrganismos que leva ao desprendimento destes do biofilme, diminuindo a concentração de microrganismos ativos e, conseqüentemente, o consumo de matéria orgânica e a eficiência de remoção.

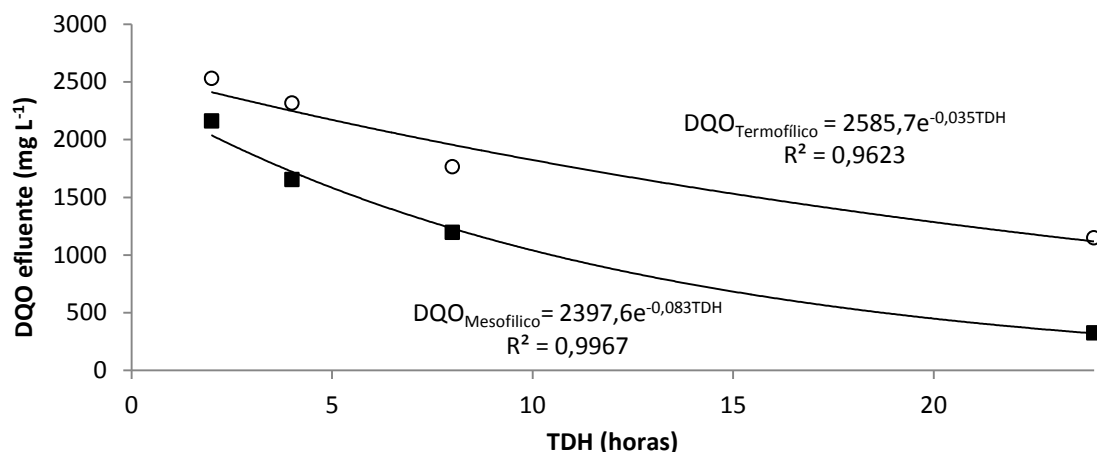


Figura 4.5: Curva da relação da DQO efluente no estado estacionário e do TDH da CCM e a expressão cinética de remoção de DQO no estado estacionário em condições mesofílicas (25°C, ■) e termofílicas (55°C, O).

Para avaliar se houve diferença estatística entre os diferentes TDH e temperaturas, foi realizado o teste estatístico de normalidade de D'Agostino usando o programa BioEstat[®] para determinar se os dados da concentração de DQO no efluente e da eficiência de remoção de DQO no período do estado estacionário da CCM (após o 20° dia de operação) seguem a distribuição normal e se são paramétricos. Para um nível de significância de 0,05, conclui-se que os dados são paramétricos, ou seja, seguem a distribuição normal. Para comparar todas as condições, usou-se o teste de hipótese ANOVA usando o programa BioEstat[®] e determinou-se que os dados são estatisticamente diferentes para o nível de significância de 0,05. Assim, conclui-se que o TDH e a temperatura influenciaram na eficiência de remoção de matéria orgânica e que a melhor condição testada para remoção de matéria orgânica foi a de temperatura mesofílica (25°C) com TDH de 24 horas.

4.3.2 Geração de energia

A energia gerada pela CCM foi impactada pelas condições operacionais de temperatura e TDH (Tabela 4.6). A CCM operada a 55°C com TDH de 2 h atingiu a maior geração média de tensão elétrica no período estacionário (40,6 mV). Por outro lado, a CCM operada a 25°C com 24 h de TDH apresentou os menores valores de energia gerada (0,2 mV). Na Figura 4.6, os perfis temporais da tensão elétrica gerada pela CCM operadas em diferentes TDH e temperaturas estão apresentados.

Tabela 4.6: Valores médios de tensão elétrica e da condutividade da solução em todo o período experimental (PE) e no período de estado estacionário (*steady-state*, PS).

Condições operacionais		Tensão elétrica (mV)		Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$)
Temperatura	TDH (h)	PE	PS	PE
Mesofílica (25°C)	2	8,3 ± 7,1	4,8 ± 0,8	1950 ± 380
	4	7,8 ± 8,6	2,6 ± 0,6	1557 ± 207
	8	4,2 ± 3,8	1,3 ± 0,5	1829 ± 198
	24	2,1 ± 3,2	0,2 ± 0,1	2124 ± 308
Termofílica (55°C)	2	53,8 ± 28,6	40,6 ± 4,3	1880 ± 270
	4	47,2 ± 21,1	31,8 ± 6,1	1990 ± 378
	8	17,1 ± 9,1	13,4 ± 1,3	2934 ± 1077
	24	15,7 ± 6,4	12,8 ± 3,7	4430 ± 1746

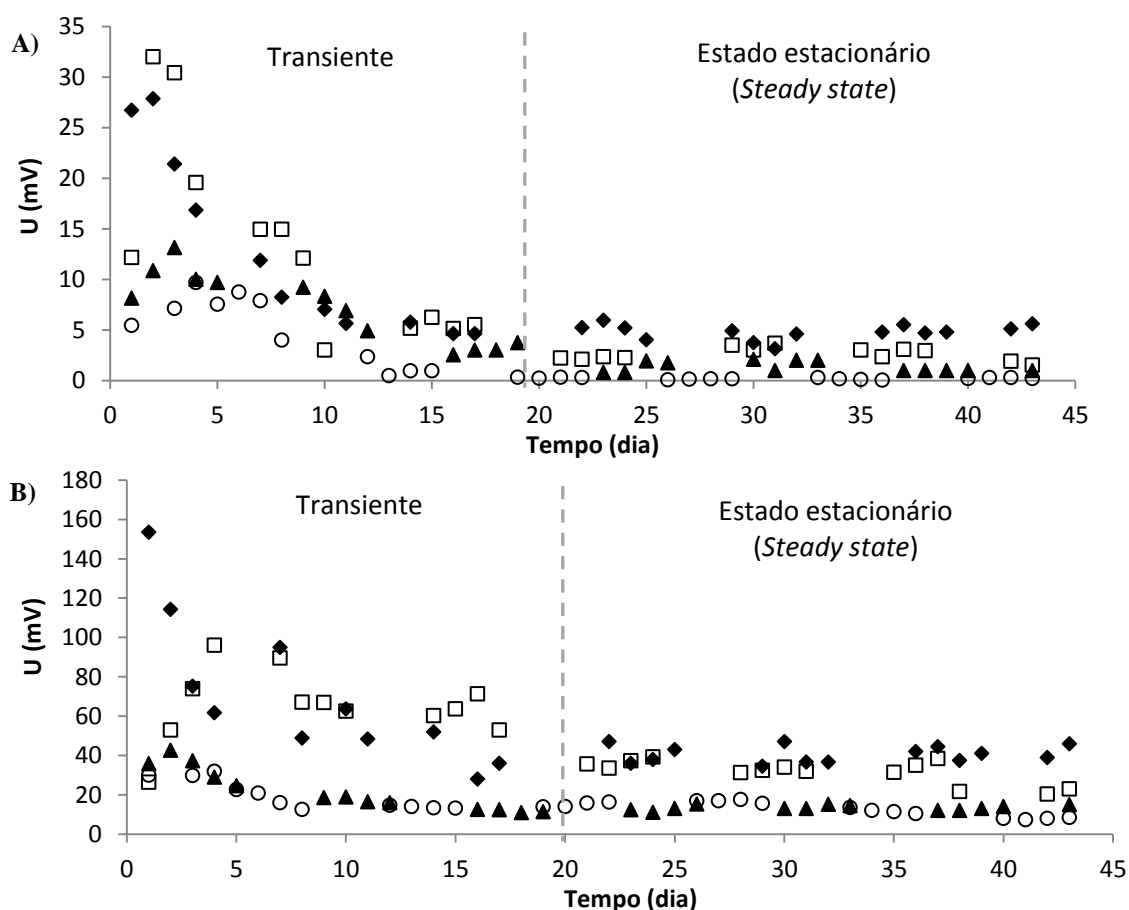


Figura 4.6: Variação temporal da tensão elétrica gerada pela CCM (U) operada em condições mesofílicas (25°C, A) e termofílica (55°C, B) e em diferentes TDH estudados: 2 (◆), 4 (□), 8 (▲) e 24 (○) h.

Analisando a Figura 4.6, pode-se observar que a tensão elétrica gerada pela CCM foi instável ao longo do período experimental. Nos primeiros dias (do 1º até o 10º dia, no máximo), a geração direta de eletricidade aumentou gradativamente até um ápice devido à biodegradação da matéria orgânica, que aumentou o número de elétrons gerados acarretando

na maior geração de tensão elétrica (MIN *et al.*, 2005; KAEWKANNETRA *et al.*, 2011). Após este período, observa-se a subsequente queda da geração de energia elétrica até o 20º dia de operação e nos últimos dias de operação uma estabilização em baixos valores. Em alguns experimentos, a diferença de potencial gerada chegou a cessar (TDH de 24 h em condições mesofílicas). Esse comportamento observado na geração de energia elétrica pode estar relacionado com a adesão de biomassa nas superfícies dos eletrodos. O aumento da concentração de biomassa aderida nas superfícies do ânodo e do cátodo reduziu a geração de tensão elétrica pela CCM. O acréscimo da concentração de biomassa aderida no ânodo pode ter impedido o contato das bactérias suspensas com o eletrodo afetando a transferência de elétrons no ânodo. O biofilme no cátodo dificultou a reação dos prótons com os elétrons e diminuiu a disponibilidade de oxigênio dissolvido para ser reduzido, diminuindo a geração de tensão elétrica pelo sistema (LIU *et al.*, 2005 WEI *et al.*, 2013 e GONZALEZ DEL CAMPO *et al.*, 2013). Desta forma, a adesão microbiana nos eletrodos tende a diminuir a geração direta de energia elétrica. Entretanto, a não adesão dos microrganismos ao eletrodo faz com que haja uma diminuição da transferência de elétrons ao eletrodo, reduzindo, assim, a geração de energia da CCM. Neste sentido, busca-se um ponto ideal com relação a adesão microbiana nos eletrodos, em que se tenha o mínimo de microrganismos para a máxima geração de energia elétrica direta.

As CCM termofílicas apresentaram maiores valores de tensão elétrica do que as CCM mesofílicas. Essa diferença provocada pela temperatura pode ser justificada pelo aumento da condutividade do meio líquido (Tabela 4.6). A condutividade iônica da água residuária efluente foi maior nas CCM termofílicas do que nas CCM mesofílicas, pois o aumento da temperatura proporciona maior mobilidade iônica na solução, aumentando a condutividade do meio líquido. Essa maior presença de íons diminuiu a resistência interna, melhorando a transferência de cargas na CCM, o que aumentou a geração de tensão elétrica pela CCM (WANG *et al.*, 2008; LARROSA-GUERREIRO *et al.*, 2010 KAEWKANNETRA *et al.*, 2011 e GONZALEZ DEL CAMPO *et al.*, 2013). Os valores médios de condutividade da solução estão apresentados na Tabela 4.6. De acordo com Wang *et al.* (2008) e Liu *et al.* (2005), a temperatura também afeta mais o potencial de eletrodo do cátodo do que o do ânodo. O aumento da temperatura eleva o potencial de eletrodo do cátodo melhorando a geração de tensão elétrica pela CCM.

A tensão elétrica da célula a combustível aumentou quando o TDH diminuiu de 24 para 2 h (Tabela 4.6) que indica que menores TDH levam ao aumento da tensão elétrica gerada pela CCM, pois menores TDH seleciona um comunidade microbiana enriquecida com

os microrganismos exoeletrogênicos. Além disso, quanto menor o TDH, menos matéria orgânica é completamente oxidada, resultando numa maior geração de ácidos orgânicos voláteis que podem ser usados pelos microrganismos exoeletrogênicos para a geração de energia elétrica ou podem ser utilizados como mediadores para a redução do ânodo. A completa oxidação da matéria orgânica diminui a disponibilidade de elétrons para a geração de energia, porque outros processos, como a metanogêneses e a sulfetogêneses, o utilizam, não permitindo que os elétrons sejam direcionados para a geração de energia elétrica. Assim, o TDH é um dos parâmetros de controle mais importantes que afetam a geração contínua de eletricidade da CCM, uma vez que o TDH pode evitar o uso dos elétrons por outros microrganismos não-bioeletrogênicos e seleciona uma comunidade microbiana dominante dos microrganismos eletrogênicos.

Na Figura 4.7, observa-se a variação linear dos valores médios de tensão elétrica e de eficiência de remoção de DQO. Quanto menor a eficiência média de remoção de DQO, maior a tensão elétrica gerada pela CCM. Além do mais, a tensão elétrica da célula foi limitada em 14,1 e 87,5 mV em condições mesofílicas e termofílicas, respectivamente, quando a matéria orgânica não é consumida.

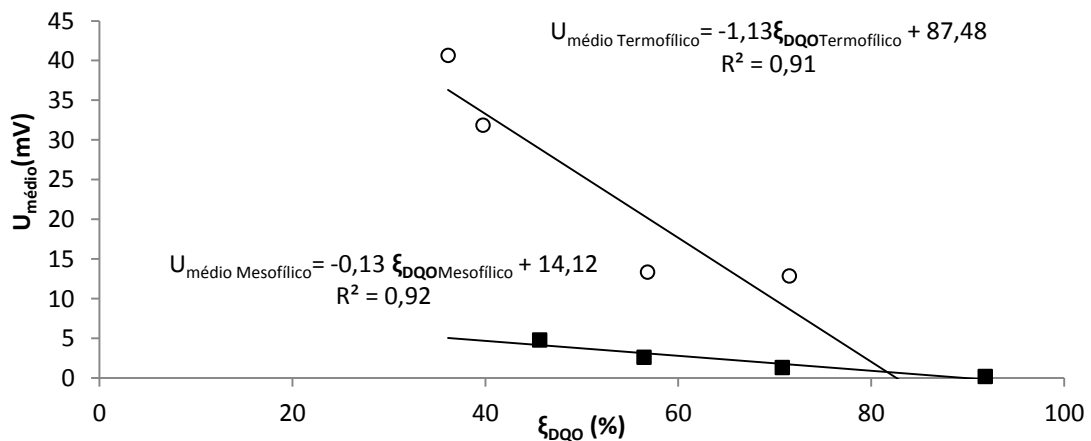


Figura 4.7: Variação da eficiência média de remoção de DQO (ξ_{DQO}) no estado estacionário (Steady State) e da tensão elétrica média gerada em condições mesofílicas (25°C, ■) e termofílicas (55°C, ○) nos diferentes TDH estudados.

O efeito do TDH na energia gerada pela CCM foi consistente com outros estudos que usaram diferentes tipos de CCM (YOU *et al.*, 2006; LIU *et al.*, 2008; JUANG *et al.*, 2012 e AKMAN *et al.*, 2013). Liu *et al.* (2008) estudaram diferentes TDH entre 3 e 33 h em uma CCM de câmara única com cátodo exposto ao ar tratando esgoto sanitário e obtiveram a melhor geração de energia elétrica (17 mW m⁻²) no menor TDH usado. You *et al.* (2006) avaliaram a influência do TDH na geração de energia usando esgoto sanitário como

combustível e CCM com cátodo de tecido de carbono recoberto com platina ($0,15 \text{ mg cm}^{-2}$) e exposto ao ar. O sistema operado por You *et al.* (2006) apresentou a maior tensão elétrica gerada de 350 mV quando a CCM foi operada com TDH de 2 h; a tensão elétrica gerada diminuiu 70% quando operada com TDH de 10 h (100 mV).

No entanto, há alguns estudos que relatam o efeito adverso de baixos TDH no desempenho da CCM (HUANG & LOGAN, 2008; RAHIMNEJAD *et al.*, 2011; LI *et al.*, 2013). Rahimnejad *et al.* (2011) testaram TDH entre 26 e 3,6 h em uma CCM de duas câmaras com membrana trocadora de prótons usando mediadores elétricos no ânodo e no cátodo. Estes autores observaram redução de 30% da densidade de potência máxima quando o TDH passou de 6,7 para 3,6 h (de 283 para 198 mW m^{-2}), causado pelo tempo de contato insuficiente entre os microrganismos aderidos no eletrodo e o substrato presente no meio líquido. Li *et al.* (2013) observaram o mesmo comportamento de diminuição da geração de energia elétrica quando o TDH passou de 5 dias para 3 dias em uma CCM tratando água residuária de abatedouro de animais (de 570 para 550 mV).

Vale a pena ressaltar que os valores obtidos neste trabalho são inferiores aos observados na literatura devido, provavelmente, a configuração da CCM, pois a CCM usada neste trabalho não usa membrana trocadora de prótons e não emprega materiais nobres como catalisadores da redução de oxigênio no cátodo, como a platina e dióxido de manganês, para aumentar a tensão elétrica gerada. O uso destes materiais encarece os custos da implantação e operação da CCM no tratamento de águas residuárias (LI *et al.*, 2013).

Um parâmetro importante para comparar a eficiência da célula a combustível microbiana na geração de energia é a eficiência Coulombica (EC) que relaciona a corrente gerada pelo sistema e a corrente teórica máxima se todo o substrato fosse convertido à energia (RODRIGO *et al.*, 2009 e LOGAN *et al.*, 2006). Na Figura 4.8, está apresentada a variação temporal da eficiência Coulombica nos diferentes tempos de detenção hidráulica aplicado ao sistema (2, 4, 8 e 24 h) em condições mesofílicas (25°C , Figura 4.8A), e termofílicas (55°C , Figura 4.8B). Como este parâmetro é dependente da concentração de matéria orgânica consumida e da tensão elétrica gerada, observa-se instabilidade ao longo do período experimental em todas às condições de operação da CCM, devido à adaptação dos microrganismos as condições de operação nos primeiros 20 dias e o efeito da adesão microbiana ao eletrodo que diminuiu a geração de energia elétrica direta.

A eficiência Coulombica média variou de 0,0003 a 0,0295 % em todas as condições estudadas (Tabela 4.7). Esses valores de eficiência Coulombica podem ser considerados extremamente baixos em particular se consideramos que a máxima eficiência esperada (para

culturas puras de microrganismo bioeletrogênicos) não pode exceder 40% (GONZALEZ DEL CAMPO *et al.*, 2013; LOBATO *et al.*, 2012; RODRIGO *et al.*, 2009), pois esse é o valor típico de consumo catabólico da matéria orgânica (os 60% restantes são usados nas reações biológicas assimilativas). Essa observação também sugere que a maior parte da matéria orgânica não foi usada pelos microrganismos redutores do ânodo e que os outros microrganismos presentes no ânodo, como, os metanogênicos, exerceram um papel importante na remoção de matéria orgânica da água residuária (HUANG & LOGAN, 2008). Segundo KAEWKANNETRA *et al.* (2011), outra causa para a baixa eficiência Coulombica apresentada pelas CCM pode ser o efeito da difusão do oxigênio do cátodo para o ânodo que acarretaria na degradação aeróbia do substrato na câmara anaeróbia, resultando na perda de matéria orgânica disponível para a geração de eletricidade e reduzindo a eficiência Coulombica.

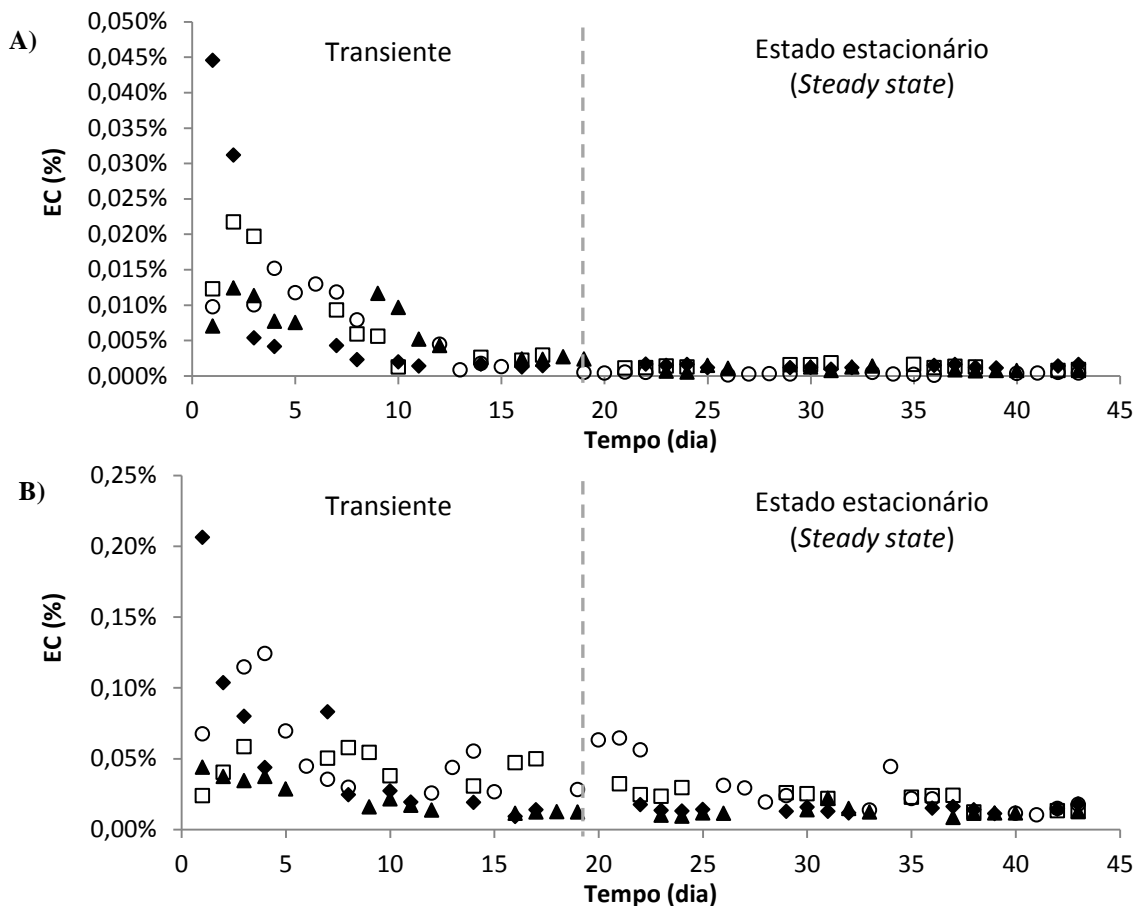


Figura 4.8: Variação temporal da eficiência Coulombica (EC) obtida pela CCM operada em condições mesofílicas (25°C, A) e termofílica (55°C, B) e em diferentes TDH estudados: 2 (◆), 4 (□), 8 (▲) e 24 (○) h.

Tabela 4.7: Valores médios de eficiência Coulombica (EC) em todo o período experimental (PE) e no período de estado estacionário (*steady-state*, PS).

Condições operacionais		Eficiência Coulombica (%)	
Temperatura	TDH (h)	PE	PS
Mesofílica (25°C)	2	0,0047 ± 0,010	0,0013 ± 0,0002
	4	0,0043 ± 0,006	0,0013 ± 0,0003
	8	0,0038 ± 0,004	0,0009 ± 0,0003
	24	0,0034 ± 0,005	0,0003 ± 0,0001
Termofílica (55°C)	2	0,0331 ± 0,044	0,0142 ± 0,002
	4	0,0332 ± 0,016	0,0222 ± 0,0059
	8	0,0176 ± 0,010	0,0123 ± 0,0033
	24	0,0410 ± 0,029	0,0295 ± 0,0186

Do mesmo modo que foi realizado para os dados de DQO efluente e da eficiência de remoção de DQO no período do estado estacionário (após o 20º dia de operação da CCM), usou-se o teste estatístico de normalidade de D'Agostino do programa BioEstat[®] para determinar se os dados de tensão elétrica e eficiência Coulombica no período do estado estacionário seguem a distribuição normal e se são paramétricos. Para um nível de significância de 0,05, conclui-se que os dados são paramétricos, ou seja, seguem a distribuição normal. Para comparar todas as condições, usou-se o teste de hipótese ANOVA usando o programa BioEstat[®] e os dados de tensão elétrica gerada pela CCM apresentaram diferença estatística para o nível de significância de 0,05. Assim, conclui-se que o TDH e a temperatura influenciaram na geração de energia elétrica direta pela CCM e que a melhor condição testada foi a célula operada em temperatura termofílica (55 °C) com TDH de 2 h. No entanto, para os dados de eficiência Coulombica pode-se concluir que não há diferença estatística entre as operações da CCM devido aos baixos valores, menores que 0,5%.

4.3.3 Adesão de biomassa e comunidade microbiana

A variação temporal da concentração de biomassa aderida à superfície dos eletrodos do ânodo e do cátodo determinada pela quantificação de sólidos total volátil (STV) aderida aos eletrodos estão apresentados na Figura 4.9. A biomassa retida no eletrodo do ânodo no fim da operação variou entre 5,80 e 22,02 mg STV cm⁻² em condições mesofílicas e entre 3,74 e 16,15 mg STV cm⁻² em condições termofílicas; para o cátodo a concentração final de biomassa variou entre 4,94 e 47,36 mg STV cm⁻² em condições mesofílicas e entre 1,91 e 23,86 mg STV cm⁻² em condições termofílicas.

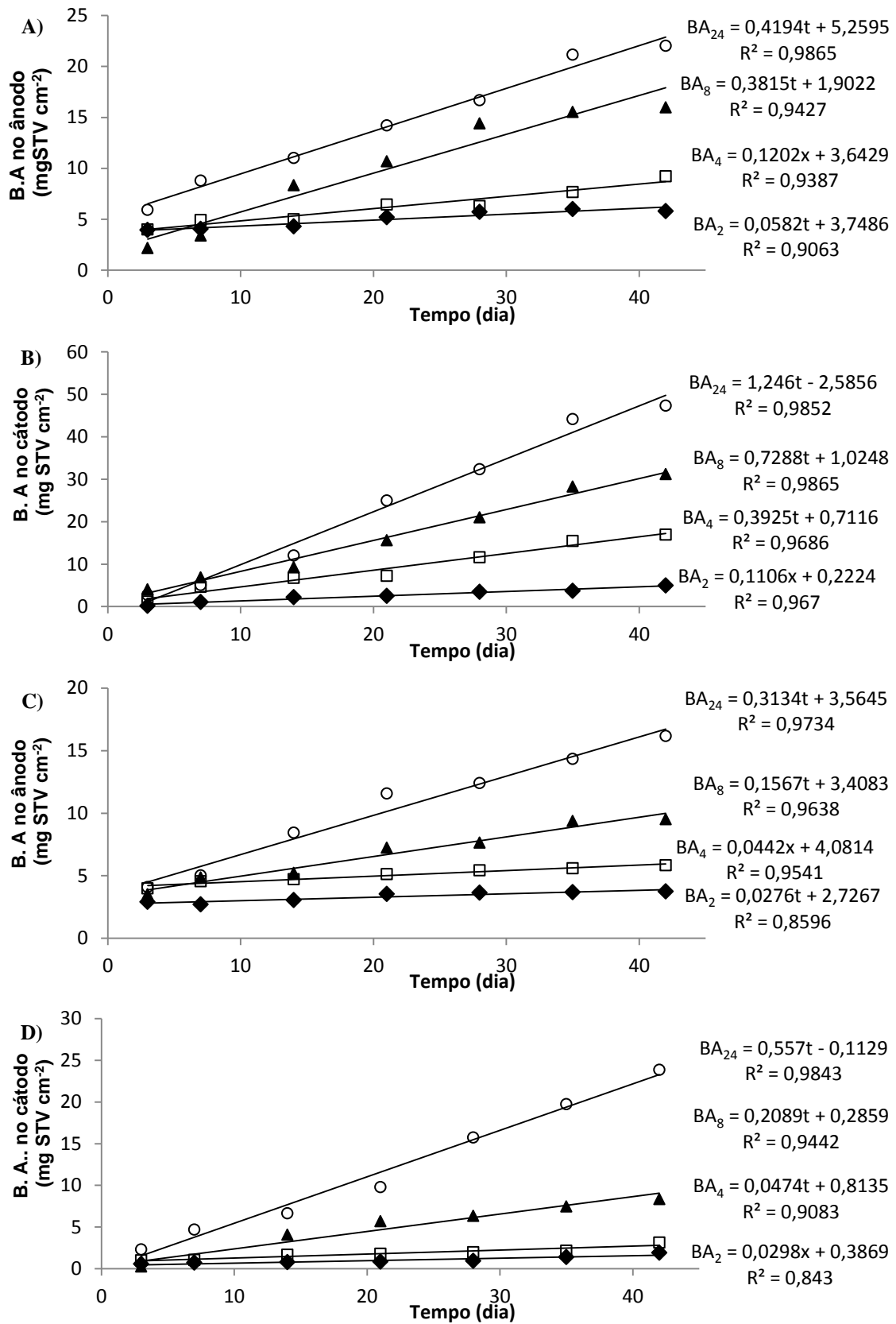


Figura 4.9: Variação temporal da concentração de biomassa aderida no ânodo e no cátodo em condições mesofílicas (25 °C, A e B) e termofílicas (55 °C, C e D nos diferentes TDH estudados: 2 (◆), 4 (□), 8 (▲) e 24 (○) h.

Analisando a Figura 4.9, todas as condições estudadas exibiram comportamento similar com relação à adesão microbiana. Os perfis de concentração de biomassa apresentaram comportamento linear, mostrando que a velocidade de adesão ao material suporte é constante ao longo do tempo. Essa tendência indica que biomassa e o eletrodo apresentaram alta biocompatibilidade, pois a biomassa não precisou de um período de tempo de adaptação o que facilitou a adesão microbiana ao eletrodo mesmo em diferentes condições operacionais. De acordo com Hirasawa *et al.* (2008), o inóculo utilizado é proveniente de um sistema que está em operação há um longo período de tempo e apresenta elevada diversidade microbiana que possibilita que este inóculo se adapte facilmente as condições operacionais impostas ao sistema, como baixos TDH e elevadas temperaturas, diminuindo sua fase de adaptação. Rodriguez & Zaiat (2011) usaram o mesmo inóculo para o tratamento de drenagem ácida de minas em reator anaeróbico com biomassa aderida em espuma de poliuretano e observaram ajustes hiperbólicos para adesão microbiana ao material suporte quando ácido láctico e etanol foram usados como substrato, indicando que esse inóculo é bem adaptado a várias condições operacionais.

Para avaliar melhor a adesão microbiana, foram calculadas as velocidades de colonização do material suporte, ou, a velocidade de adesão ao material suporte que é a derivada em relação ao tempo do ajuste observado na Figura 4.9. Os valores médios da velocidade de colonização para o ânodo e cátodo para as condições testadas estão apresentados na Tabela 4.8.

Tabela 4.8: Velocidade de colonização do eletrodo no ânodo e no cátodo da CCM, índice de dominância e de Shannon nas diferentes condições operacionais.

Condições operacionais	TDH (h)	Velocidade de colonização do eletrodo (mg STV cm ⁻² d ⁻¹)		Índice de Dominância		Índice de Shannon	
		Ânodo	Cátodo	Ânodo	Cátodo	Ânodo	Cátodo
Mesofílico (25°C)	2	0,058	0,110	-	-	-	-
	4	0,120	0,392	0,04799	0,04252	3,115	3,245
	8	0,381	0,728	0,03626	0,05074	3,38	3,069
	24	0,419	1,24	0,03589	0,04377	3,402	3,215
Termofílico (55°C)	2	0,028	0,030	-	-	-	-
	4	0,044	0,047	0,05915	0,0732	2,95	2,634
	8	0,156	0,208	0,05585	0,08376	2,972	2,724
	24	0,313	0,557	0,1114	0,05751	2,293	2,926

-: não medido.

A temperatura e o TDH influenciaram significativamente a concentração máxima aderida nos eletrodos e a velocidade de colonização dos mesmos (Figura 4.9 e Tabela 4.8). Quando o TDH diminuiu de 24 para 2 h, a velocidade de colonização do ânodo em condições mesofílicas foi reduzida em 86% (de 0,419 para 0,058 mg STV cm⁻² d⁻¹) e a do cátodo decresceu em 91% (de 1,246 para 0,110 mg STV cm⁻² d⁻¹) e em condições termofílicas a diminuição da velocidade de colonização do ânodo foi de 91% (de 0,313 para 0,027 mg STV cm⁻² d⁻¹) e a do cátodo de 95% (de 0,557 para 0,030 mg STV cm⁻² d⁻¹). Menores TDH resultaram em menores velocidades de colonização dos eletrodos no ânodo e no cátodo, pois a velocidade ascensional do meio líquido e a força de cisalhamento foram maiores e causaram o arraste (“wash-out”) da biomassa e o desprendimento do biofilme diminuindo a concentração de biomassa aderida ao eletrodo. A diminuição do TDH pode ter aumentado a produção de polímero extracelular que tornou o biofilme espesso, facilitando o desprendimento de biomassa pelo choque partícula-partícula, tornando a adesão dos microrganismos à superfície do eletrodo mais fraca e causando a redução da concentração de biomassa aderida com o TDH. Consequentemente, a menor concentração de biomassa aderida ao eletrodo em baixos TDH pode ter contribuído para o aumento da tensão elétrica gerada pela CCM (Tabela 4.6). Barros *et al.* (2010) observaram comportamento similar na concentração de biomassa aderida em poliestireno e argila expandida como material suporte para produção de biohidrogênio em reator anaeróbio de leito fluidificado. Desta forma o TDH serve como um parâmetro operacional para selecionar a comunidade microbiana mais favorável para a geração de energia elétrica direta.

As condições mesofílicas apresentaram as mais rápidas velocidades de colonização do eletrodo e as maiores concentrações de biomassa aderida no eletrodo, indicando que a comunidade microbiana sofreu menos efeito adverso da temperatura do que em condições termofílicas. As velocidades de colonização dos eletrodos do ânodo e do cátodo foram em média 114% e 343% maiores em condições mesofílicas que em termofílicas, respectivamente. Em elevadas temperaturas, algumas enzimas de alguns microrganismos são desnaturadas diminuindo a liberação de polímeros extracelular o que tornou adesão à superfície do eletrodo mais fraca e proporcionou o desprendimento do biofilme (PATIL *et al.*, 2010). Subsequentemente, foi observada uma menor concentração de biomassa aderida quando a CCM foi operada em condições termofílicas que resultaram na maior geração de tensão elétrica nestas condições (Tabela 4.6). Portanto, condições mesofílicas e longos TDH proporcionaram maior adesão de microrganismos ao eletrodo que afetou negativamente a geração de energia elétrica pela CCM e positivamente a remoção de matéria orgânica.

Na Figura 4.10, os perfis de DGGE ilustram a influência da temperatura e do TDH (4, 8, e 24 h) na comunidade microbiana no final do período operacional. Quando a CCM foi operada com TDH de 2 h, as amostras de sólido não foram suficientes para se extrair o DNA. Conseqüentemente, a análise da comunidade microbiana dessas CCM não foi possível. No entanto, mesmo com a ausência destas amostras, deve-se notar que os dendogramas do DGGE mostraram perfis interessantes com respeito a influência da temperatura e do TDH na comunidade microbiana.

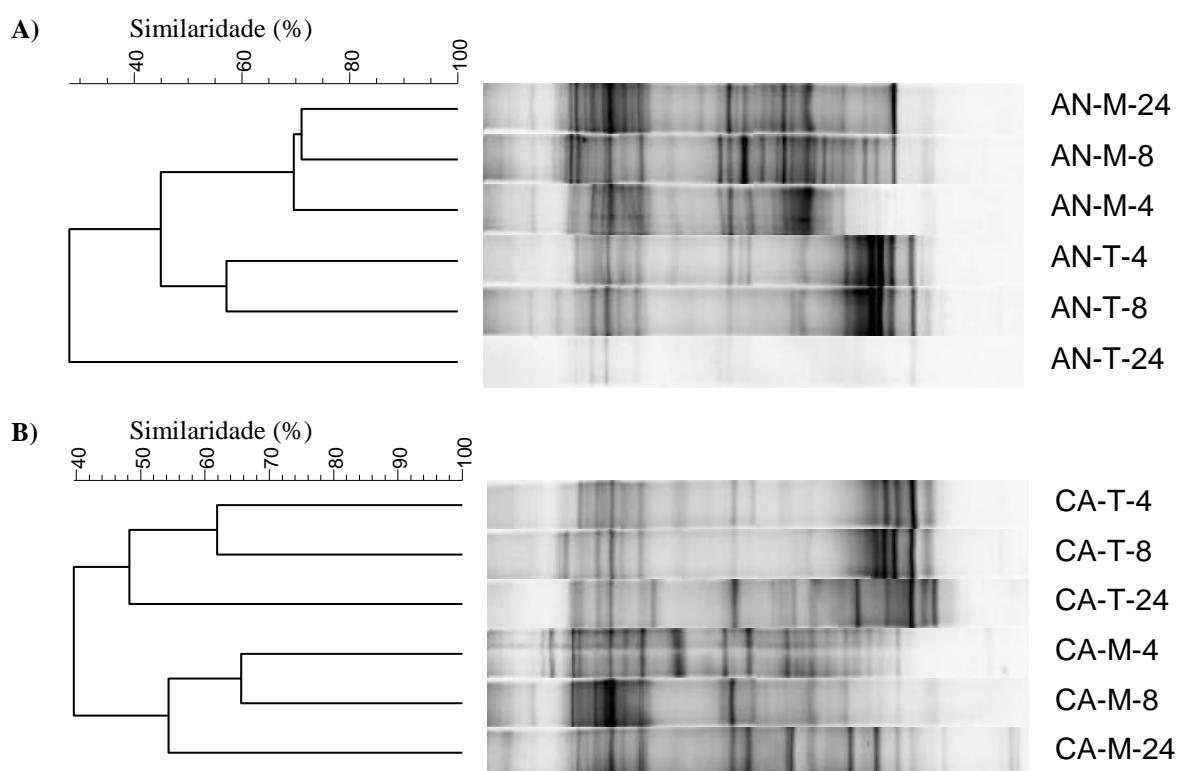


Figura 4.10: Análise dos dendogramas mostrando a influência das condições mesofílica (M) e termofílica (T) e do TDH (4, 8 e 24 h) na comunidade microbiana do ânodo (AN, A) e no cátodo (CA, B).

A influência da temperatura e do TDH na comunidade microbiana do ânodo (AN) são apresentados na Figura 4.10A. O padrão de banda observado entre as amostras mesofílica e termofílica (M e T, respectivamente) da comunidade microbiana apresentou somente 28% - 45% de similaridade, indicando diferenças nas populações microbianas do ânodo como consequência da temperatura de operação. Com respeito ao TDH, os microrganismos do ânodo em condições mesofílicas foram mais similares do que os presentes nas condições termofílicas, não mudando tanto pelo TDH de operação. As amostras coletadas quando a CCM foi operada com TDH de 4, 8 e 24 h em condição mesofílica apresentaram a maior similaridade (70% - 71% entre as amostras AN-M-4, AN-M-8 e AN-M-24, Figure 4.10A). Contudo, em condição termofílica, o impacto do TDH foi mais severo mudando a

comunidade microbiana. As amostras termofílicas (AN-T-4, AN-T-8 e AN-T-24) tiveram somente 28% de similaridade entre si (Figura 4.10A).

As amostras da comunidade microbiana do cátodo (CA) na Figura 4.10B foram agrupadas em dois grupos de acordo com a temperatura de operação: mesofílica ou termofílica. As amostras coletadas nas condições mesofílica e termofílica tiveram baixa similaridade de 40% indicando que a temperatura, também, afetou os microrganismos presentes no cátodo da CCM. O TDH foi responsável por eliminar certos microrganismos enquanto manteve outros no cátodo da CCM. As amostras coletadas quando a CCM foi operadas com TDH de 4 e 8 h tiveram uma similaridade maior que 62% e 66% para a condição mesofílica e termofílica, respectivamente. Embora, operando a CCM com longo TDH de 24 h, a similaridade diminuiu um pouco para 48% e 54% nas condições mesofílicas e termofílicas. Fica claro que o TDH é um dos principais parâmetros de controle da CCM, pois ele seleciona a comunidade microbiana, eliminando os microrganismos que consomem os elétrons, como os microrganismos metanogênicos e sulfetogênicos, e mantendo outros que são bioeletrogênicos.

A diversidade e a dominância do consórcio microbiano foram analisadas para cada condição operacional estudada (Tabela 4.8) e os valores apresentaram uma relação com as condições operacionais da CCM. A comunidade microbiana submetida às condições mesofílicas apresentou maior diversidade do que as condições termofílicas, porque as amostras coletadas a 25°C (3,06 – 3,40) tiveram índice de Shannon maior que o observado nas amostras coletadas a 55°C (2,29 - 2,97). Por outro lado, as comunidades microbianas termofílicas apresentaram maior dominância que as mesofílicas devido ao índice de dominância ser maior nas primeiras (0,055 – 0,11) do que nas segundas amostras (0,035 – 0,050). Esses resultados reforçam que a maior dominância e a menor diversidade do consórcio microbiano afetaram negativamente a remoção de DQO pela CCM e a adesão microbiana ao eletrodo e positivamente a geração de energia elétrica pela CCM (Tabelas 4.5, 4.6 e 4.8). Assim, a temperatura é um dos fatores mais importantes na seleção e crescimento da comunidade microbiana, pois a temperatura no interior do microrganismo é determinada pela condição do ambiente, uma vez que estes não conseguem regular sua temperatura interior (AGIBERT *et al.*, 2007).

Com relação ao TDH, quanto mais longo o TDH maior é a diversidade do consórcio microbiano. Essa observação pode ser explicada em termos do aumento do índice de Shannon com o aumento do TDH (Tabela 4.8). Longos TDH permitiram que mais tipos de microrganismos se reproduzissem e permanecessem no sistema, aumentando a diversidade da

comunidade microbiana. No entanto, essa observação não é válida para as amostras coletadas do cátodo das condições mesofílicas, nas quais os índices de diversidade foram muito similares.

4.3.4 Caracterização da comunidade microbiana pelo sequenciamento massivo

Por meio do sequenciamento massivo usando a tecnologia Illumina, foram obtidas 527.032 sequências de genes do 16S rRNA das 4 amostras de biomassa analisadas do ânodo e do cátodo da CMM operada em condições mesofílica e termofílica (Tabela 4.9) O tamanho médio dos fragmentos foi superior a 300 pares de bases.

Tabela 4.9: Resultados do sequenciamento massivo das amostras do ânodo e do cátodo da CCM operada em condição mesofílica e termofílica com TDH de 4 h.

Parâmetros		Amostra			
		MC4	TC4	MA4	TA4
Número de sequências	Dados brutos	222.511	107.231	158.126	39.164
	Dados filtrados	124.563	45.326	67.975	20.567
	Dados normalizados	20.500	20.500	20.500	20.500
Número de OTU	Total	458±7	420±6	455±13	246±10
	Singletons	239	235	229	133
Índices de riqueza e diversidade	Chao1	957 ± 73	894 ± 78	803 ± 81	497 ± 58
	Shannon (H)	3,15 ± 0,03	2,07 ± 0,04	2,80 ± 0,04	1,79 ± 0,03
	Dominance_D	0,097 ± 0,003	0,319 ± 0,01	0,136 ± 0,004	0,31 ± 0,007
Cobertura	Fórmula de Good	98,83%	98,85%	98,88%	99,35%

Deste total, obtiveram-se 1.579 unidades taxonômicas operacionais (*operational taxonomic unit*, OTU). Para cada amostra analisada esse valor variou entre 246 a 458 OTU, dos quais 50 – 52% são singletons (Tabela 4.9). Verificou-se que o processo de caracterização microbiana apresentou alta cobertura da comunidade microbiana, pois, por meio da análise de cobertura (fórmula de Good), mais de 98% da comunidade microbiana foi acessada.

Os valores de riqueza estimados pelo índice Chao1 variaram entre 957 e 497. As amostras aeróbias (MC4 e TC4) apresentaram maior riqueza que as amostras anaeróbias (MA4 e TA4), mostrando que a comunidade microbiana presente no compartimento do cátodo da CCM tem mais indivíduos distintos que os apresentados pelas comunidades microbianas anaeróbias presentes no ânodo da CCM. Quando se compara o mesmo compartimento operado em condições mesofílicas e termofílicas, observa-se que as amostras termofílicas (TA4 e TC4) apresentaram menores índices de riqueza que as amostras

mesofílicas (MA4 e MC4), pois poucos microrganismos conseguem sobreviver à elevada temperatura visto que algumas enzimas de alguns microrganismos se desnaturam sendo necessárias estruturas e catabolismos específicos (PATIL *et al.*, 2010). Provavelmente, a maior riqueza da comunidade microbiana em condição mesofílica favoreceu a maior degradação da matéria orgânica e prejudicou a geração de energia do que a condição termofílica (Tabela 4.5 e 4.6), pois os elétrons gerados na oxidação da matéria orgânica em condição mesofílica foram usados em outros processos não geradores de energia elétrica pelos microrganismos mesofílicos, como, metanogênese e sulfetogênese.

O índice de Shannon variou entre 1,79 e 3,15. Este índice indica a diversidade microbiana quanto maior o índice de Shannon, maior o número táxons e, conseqüentemente, maior a diversidade microbiana. O comportamento do índice de Shannon foi similar ao observado no índice de Chao1. As comunidades microbianas submetidas à aeração (MC4 e TC4) apresentaram maior diversidade que as amostras anaeróbias (MA4 e TA4), mostrando que a comunidade microbiana do cátodo da CCM é mais diversificada que comunidade encontrada no ânodo da CCM. As comunidades microbianas submetidas à condição mesofílica (MC4 e MA4) apresentaram maior diversidade do que as comunidades submetidas a condição termofílica (TC4 e TA4). No entanto, a dominância foi maior nas condições termofílicas do que nas condições mesofílicas (Tabela 4.9), indicando que algumas populações microbianas predominaram mais nos compartimentos termofílicos do que nos mesofílicos. Portanto, a temperatura de operação da CCM foi um fator determinante para a seleção e diversidade da comunidade microbiana, pois os microrganismos não regulam sua temperatura interior sendo determinada pela condição do ambiente (AGIBERT *et al.*, 2007); e, em elevadas temperaturas, há a desnaturação de algumas enzimas diminuindo a quantidade de espécies (PATIL *et al.*, 2010). Esses resultados reforçam que a menor diversidade do consórcio microbiano termofílico afetou negativamente a remoção de DQO pela CCM e positivamente a geração de energia elétrica pela CCM (Tabela 4.5 e 4.6). Outros trabalhos observaram que quanto menor a diversidade e maior a dominância da comunidade microbiana maior a geração de energia (KIELY *et al.*, 2010 e SUN *et al.*, 2012).

Na Figura 4.11, estão apresentadas as curvas de rarefação para o nível taxonômico de gênero com 97% de confiança para todas as quatro amostras analisadas pelo sequenciamento massivo. Pode-se verificar que as amostras termofílicas (TC4 e TA4) apresentaram menores inclinações do que as amostras mesofílicas (MC4 e MA4) devido a maior dominância e a menor diversidade (menor valor do índice de Shannon) observadas nas amostras termofílicas do que nas amostras mesofílicas.

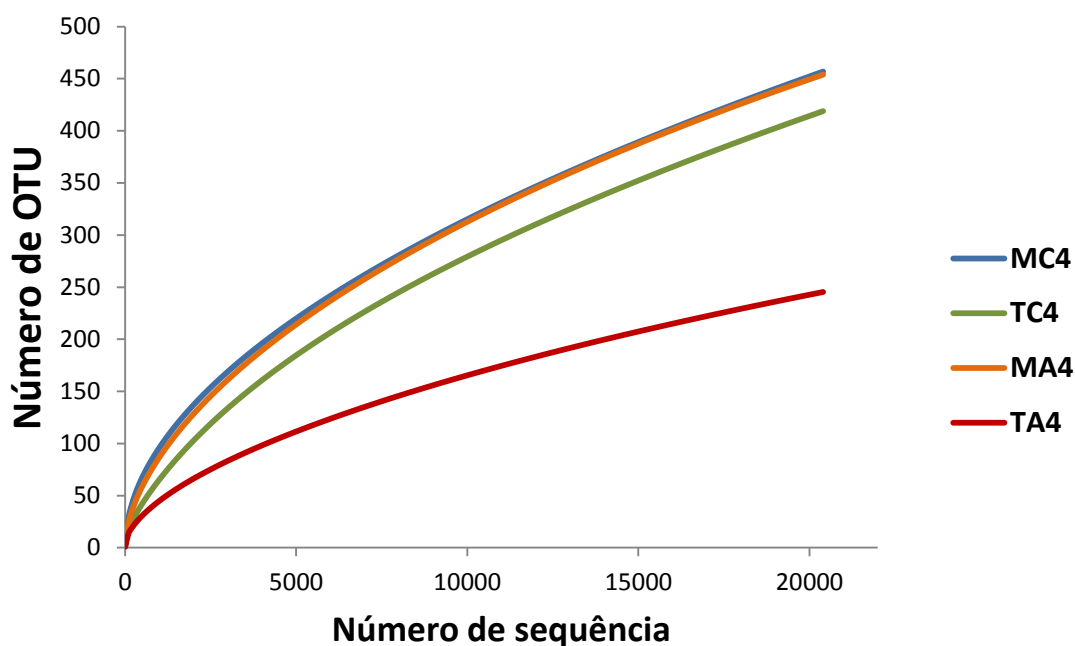


Figura 4.11: Curvas de rarefação com os dados normalizados e OTU a 97 % de similaridade para sequenciamento massivo das amostras do ânodo e do cátodo da CCM operada em condição mesofílica e termofílica com TDH de 4 horas: MC4, TC4, MA4 e TA4.

Usou-se o índice de Bray-Curtis para comparar as quatro amostras de biomassa sequenciadas: do ânodo e do cátodo da CMM operada em condições mesofílica e termofílica (Figura 4.12). As biomassas se agruparam em dois grupos de acordo com a temperatura de operação da CCM. As amostras de biomassa dos compartimentos mesofílicos (MC4 e MA4) tiveram 21% de similaridade, enquanto as termofílicas (TC4 e TA4) 24%. Como os microrganismos não regulam a temperatura do interior da célula e as condições ambientais as determinam, é coerente que as comunidades microbianas operadas a mesma temperatura apresentem maior semelhança do que as comunidades do mesmo compartimento da CCM (AGIBERT *et al.*, 2007). Vale ressaltar que houve apenas 7% de similaridade entre a comunidade microbiana do ânodo da CMM operada em condições mesofílica e termofílica, embora o mesmo inóculo tenha sido usado no início da operação da CCM em ambas as condições operacionais.

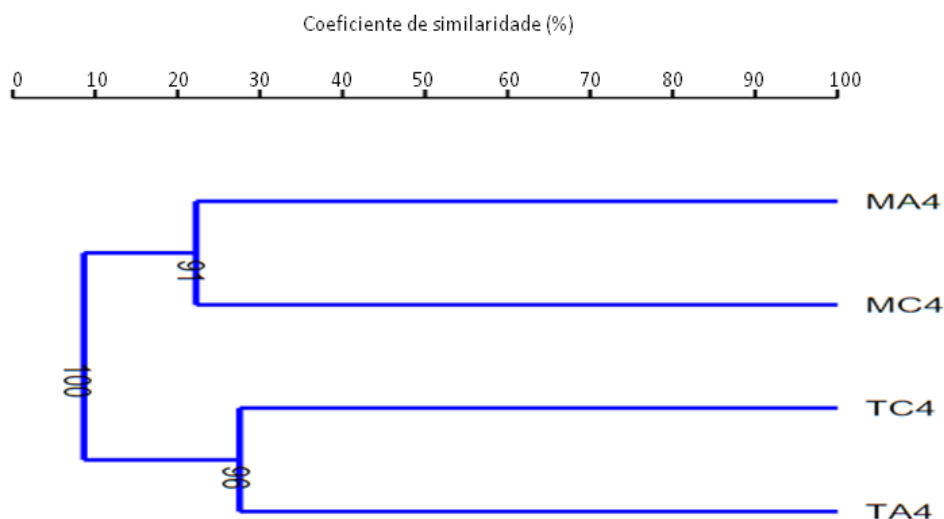


Figura 4.12: Dendrograma baseado no índice de Bray-Curtis para as amostras do ânodo e do cátodo da CCM operada em condição mesofílica e termofílica com TDH de 4 horas para 1000 repetições. Nos nós há porcentagem de geração de cada ramo.

Na classificação taxonômica observou-se que quase todas as sequências (acima de 99%) foram classificadas em nível de filo. Foram identificados 24 filios nas 4 amostras analisadas, porém os mais abundantes foram: nas condições termofílicas os filios *Firmicutes* e *Actinobacteria* e nas condições mesofílicas os filios *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, e *Proteobacteria*. A Figura 4.13 apresenta a distribuição dos filios mais abundantes em cada uma das quatro amostras analisadas. Analisando a Figura 4.13B e C, pode-se observar há diferença significativa entre a distribuição dos filios nas amostras do ânodo e cátodo da CCM operada em condição mesofílica e termofílica, uma vez que o q valor foi menor que p-valor (0,05) para um limite de confiança de 95%. Além disso, pode-se observar na Figura 4.13B e C a presença de outros filios com abundância relativa maior que 0,1%.

O filo *Bacteroidetes* foi o mais abundante na amostra do cátodo da CCM em condição mesofílica (MC4, com 72,6 %) e o filo *Firmicutes* foi o mais abundante nas demais amostras analisadas (MA4 com 69,4%, TA4 com 94% e TC4 com 90% Figura 4.13A). A prevalência destes filios nas amostras de CCM está em acordo com trabalhos anteriores (RISMANI-YAZDI *et al.*, 2013, JIA *et al.*, 2013). Jia *et al.* (2013) observaram que os filios *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* e *Firmicutes* eram os mais abundantes em CCM tratando resíduo alimentar com abundância relativa de 40,9, 39,8 e 14,4 %, respectivamente.

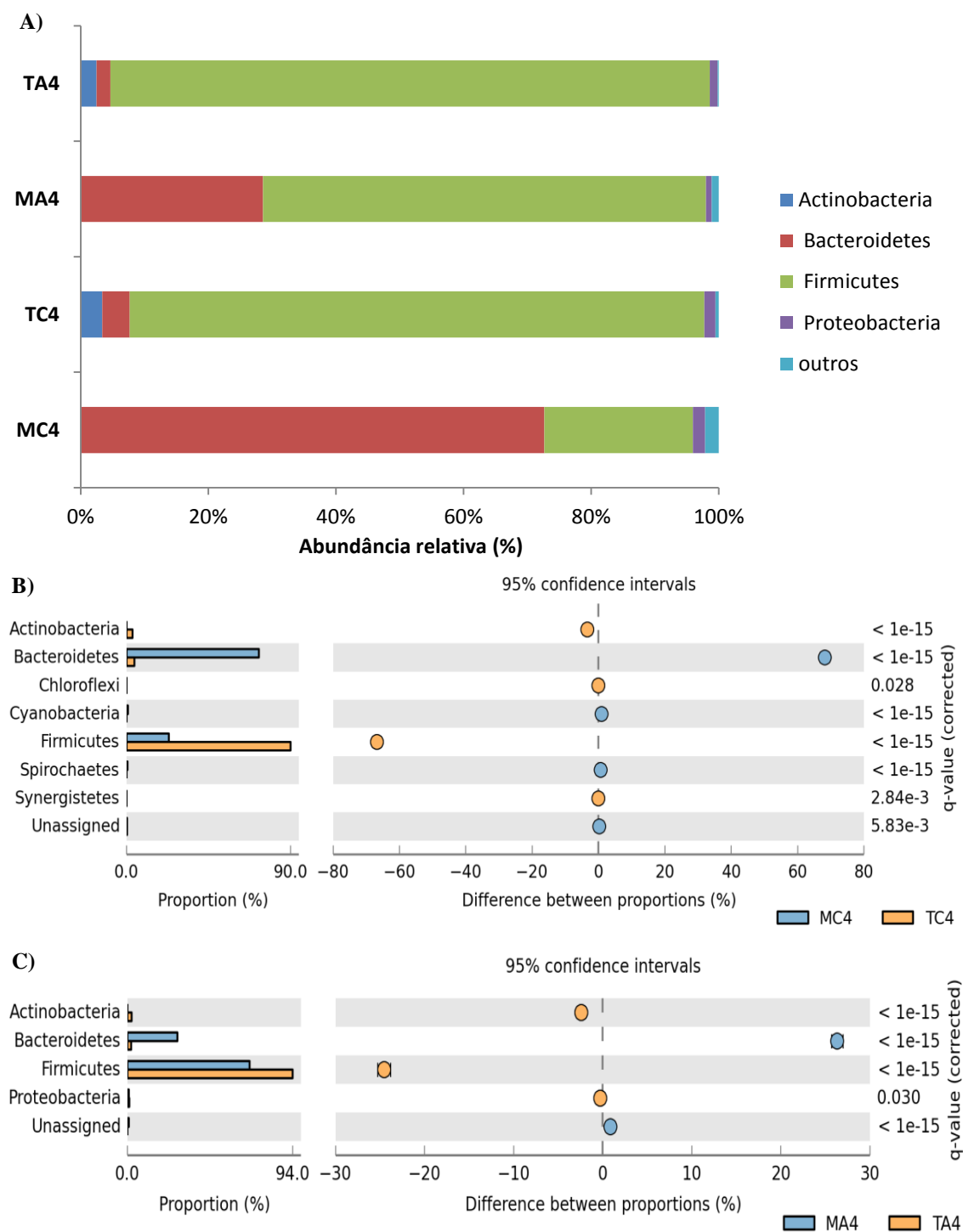


Figura 4.13: Distribuição da abundância relativa de filos e diferença de proporção nas amostras do ânodo e do cátodo da CCM operada em condição mesofílica e termofílica com TDH de 4 horas (A) e a diferença de proporções das populações entre os cátodos mesofílico e termofílico (B) e entre os ânodos mesofílico e termofílico (C).

Na Figura 4.14, está apresentado o diagrama de Venn que compara a distribuição dos gêneros das quatro amostras sequenciadas. Observa-se que 19 gêneros dos 117 identificados estiveram presentes nas quatro amostras analisadas mesmo sendo de diferentes compartimentos de CCM operadas em condições mesofílica e termofílica (MC4, TC4, MA4 e

TA4). Essa baixa quantidade de gêneros em comum colabora com a hipótese de seleção da microbiota com a temperatura de operação das CCM mesmo usando o mesmo inóculo no início da operação do sistema, uma vez que a temperatura do interior do microorganismo é regulada pelas condições ambientais (AGIBERT *et al.*, 2007).

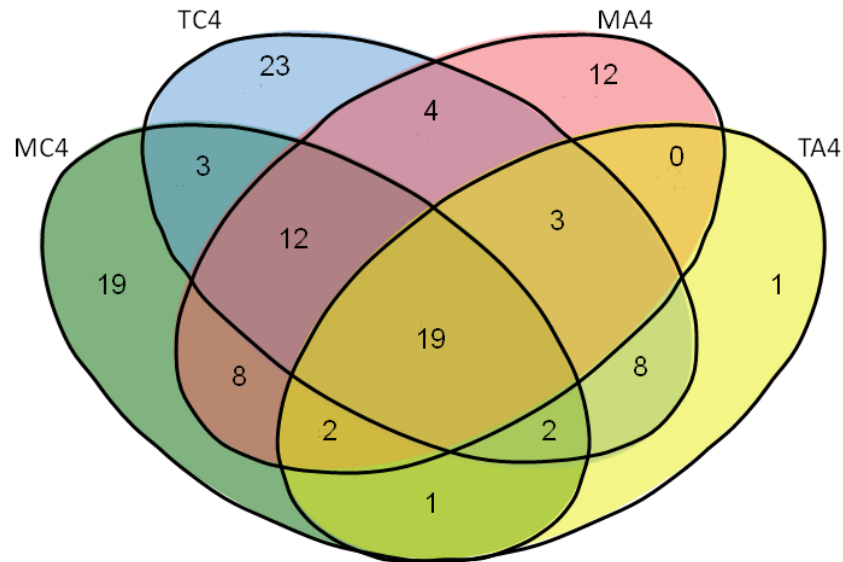


Figura 4.14: Diagrama de Venn da presença e ausência de gênero para as amostras do ânodo (A) e do cátodo (C) da CCM operada em condição mesofílica (M) e termofílica (T) com TDH de 4 horas.

Com relação ao nível de gênero, entre 74 e 96% das sequências encontradas foram identificadas. A soma das abundâncias relativas dos 14 gêneros com abundância relativa acima de 0,3% representaram mais de 75% da abundância relativa de cada amostra da comunidade microbiana sequenciada. Gêneros como *Bacillus*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Dysgonomonas* e *Thermoanaerobacterium*, apresentaram elevada abundância relativa no ânodo e no cátodo da CCM operada em condições mesofílicas e termofílicas. A presença de diversos gêneros no final da operação da CCM reflete que o inóculo utilizado apresenta tanto bactérias mesofílicas como bactérias termofílicas na comunidade microbiana (HIRASAWA *et al.*, 2008). Na Figura 4.15 está apresentada a distribuição dos gêneros em cada uma das quatro amostras analisadas. Na Figura 4.16, pode se observar que há diferença significativa entre a distribuição dos gêneros nas amostras do ânodo e cátodo da CCM operada em condição mesofílica e termofílica, uma vez que o q valor foi menor que p-valor (0,05) para um limite de confiança de 95%.

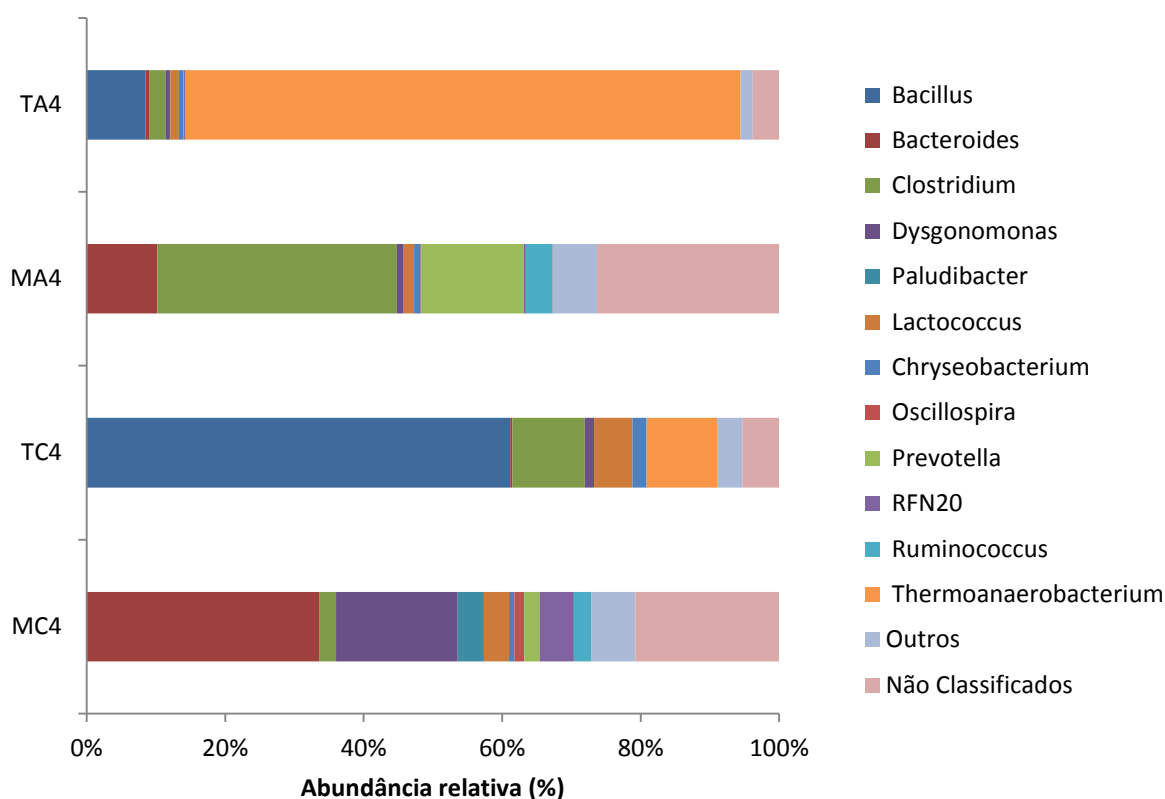


Figura 4.15: Distribuição da abundância relativa de gêneros nas amostras do ânodo e do cátodo da CCM operada em condição mesofílica e termofílica com TDH de 4 horas.

No ânodo termofílico da CCM (TA4), o consórcio microbiano teve abundante população de *Thermoanaerobacterium*, com abundância relativa de 80,3%. O gênero *Thermoanaerobacterium* pertence ao filo *Firmicutes*, Classe *Clostridia* e ordem *Clostridiales* e são microrganismos anaeróbios termofílicos e podem usar carboidratos complexos para produzir hidrogênio e ácidos orgânicos de cadeia curta (BREMER *et al.*, 2005, O-THONG *et al.*, 2009 e RATTI *et al.*, 2015,). Todavia, os microrganismos *Thermoanaerobacterium* não estão relacionados com os mecanismos de transferência de elétrons, mas com a hidrólise da matéria orgânica e a geração de metabólitos a serem utilizados por outros microrganismos na geração de energia elétrica direta. Diversos trabalhos que usaram células a combustível microbiana em diferentes configurações em condições termofílicas relatam a dominância deste gênero na comunidade microbiana do ânodo (JONG *et al.*, 2006 e LEAÑO *et al.*, 2012).

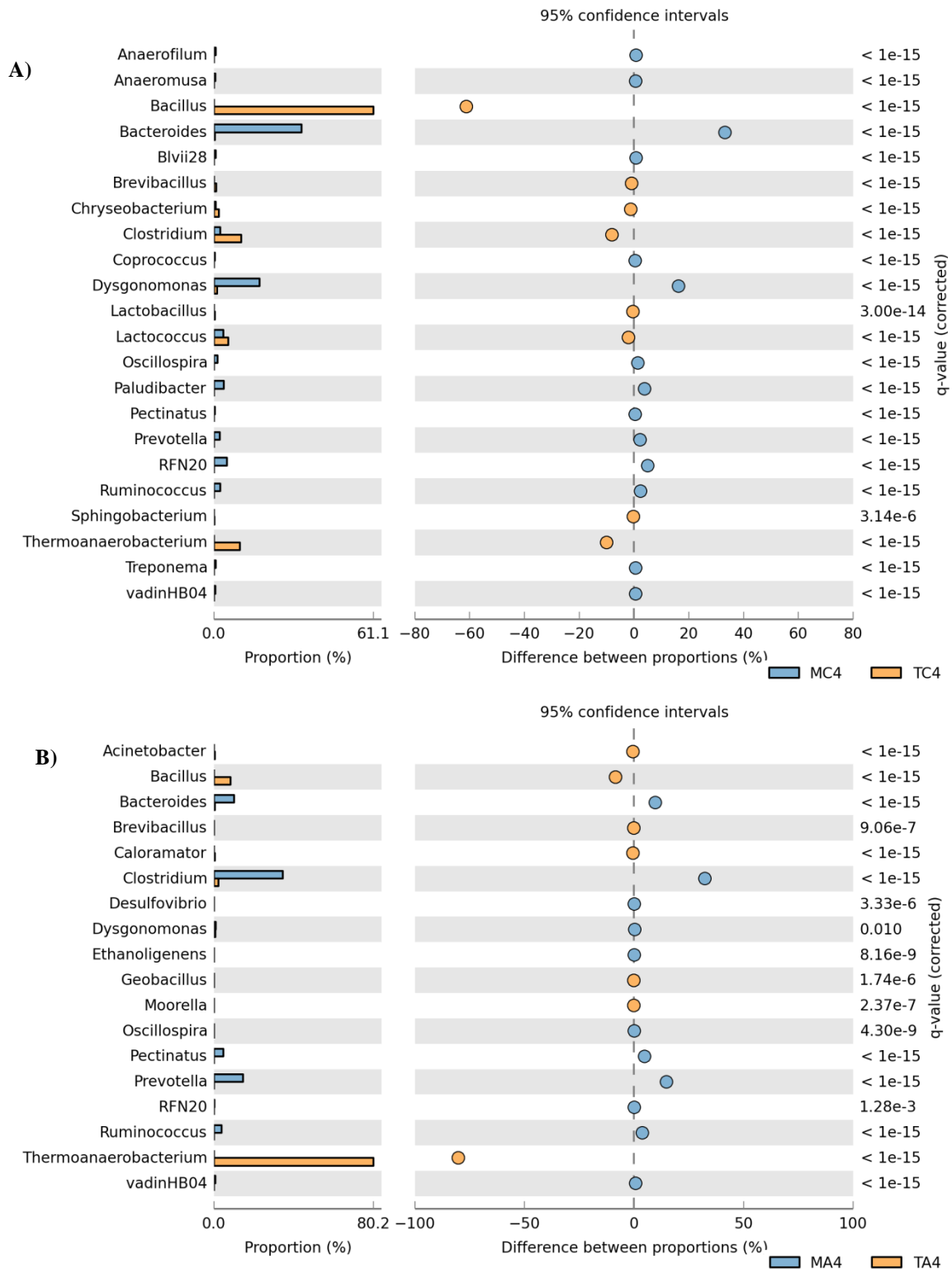


Figura 4.16: Diferença de proporções das populações entre os cátodos mesofílico e termofílico (A) e entre os ânodos mesofílico e termofílico (B).

Outra população dominante no ânodo termofílico (TA4) foi o gênero *Bacillus* que apresentou abundância relativa de 8,5%. O gênero *Bacillus* pertence ao filo *Firmicutes*, Classe *Clostridia* e ordem *Clostridiales* e são microrganismos altamente versáteis podendo viver em

condições psicofílicas e termofílica, acidofílicas ($\text{pH} < 3$) a alcalinofílicas ($\text{pH} > 9$) e apresentam os mais variados requisitos nutricionais (BREMER *et al.*, 2005 e TANG *et al.*, 2014). A presença de *Bacillus* na comunidade microbiana no ânodo está relacionada com a capacidade de alguns microrganismos deste gênero de conseguirem oxidar o substrato e transferir os elétrons para o eletrodo do ânodo da CCM por meio do contato direto, como os *Bacillus subtilis*, *Bacillus thermophilum*, *Bacillus thermoglucosidans*, *Bacillus licheniformis* que realizam a redução do ânodo da CCM (CHOI *et al.*, 2004, NIMJE *et al.*, 2009, ISMAIL & JAEEL, 2013 e TANG *et al.*, 2014.). Pode-se justificar a maior geração de energia na condição termofílica do que mesofílica (Tabela 4.6), também, pela simbiose entre os microrganismos *Thermoanaerobacterium* e *Bacillus*.

Diferentemente, a comunidade microbiana do ânodo mesofílico (MA4) apresentou maior abundância relativa de três gêneros: *Clostridium* (34 %), *Bacteriodes* (10 %) e *Prevotella* (14 %). O gênero *Clostridium* pertence ao filo *Firmicutes*, Classe *Clostridia* e ordem *Clostridiales* e apresenta microrganismos com diferentes vias metabólicas e requisitos nutricionais. Vários membros deste gênero realizam a fermentação de compostos orgânicos complexos em ácidos orgânicos voláteis simples que podem ser usados pelos microrganismos redutores do ânodo da CCM e, por esta razão têm sido amplamente relatados na literatura (ISHII *et al.*, 2012 e SANTORO *et al.*, 2015). Além disso, algumas cepas de *C. butyricum* apresentam baixa atividade de geração de energia a partir da redução do ânodo da CCM usando compostos orgânicos complexos como doadores de elétrons (PARK *et al.*, 2001).

Os *Prevotella* e *Bacteriodes*, o segundo e terceiro gêneros mais abundantes do ânodo mesofílico (MA4), pertencem ao filo *Bacteroidetes*, classe *Bacteroidetes* e ordem *Bacteroidales* e são microrganismos anaeróbios e sacarolíticos e produzem ácidos orgânicos em diferentes proporções dependendo das condições operacionais (BREMER *et al.*, 2005). Esses microrganismos são comumente relatados em comunidades microbianas no ânodo da CCM, porém há pouca informação sobre a sua dinâmica na comunidade microbiana do ânodo das CCM (JIA *et al.*, 2013). Os microrganismos do gênero *Prevotella* possuem quinonas na membrana celular, que são proteínas, que podem participar do processo de transferência de elétrons reduzindo o eletrodo (BREMER *et al.*, 2005 e DU *et al.*, 2007). Assim, a menor proporção dos microrganismos redutores de ânodo e a menor atividade eletrogênica destes microrganismos gram positivos resultaram consequentemente na menor geração de energia da CCM em condição mesofílica do que em condição termofílica (Tabela 4.6).

A Figura 4.17 apresenta uma sugestão dos possíveis mecanismos de transferências de elétrons para o ânodo nas CCM mesofílicas e termofílicas. Como já foi explicado

anteriormente, a transferência mesofílica se baseou no uso de quinonas como mediadores redox para transferir os elétrons e a transferência termofílica se baseou na transferência direta, por essa diferença e por apresentar maior eficiência a segunda sobre a primeira as CCM operadas em condições termofílicas apresentaram maiores valores de geração de energia do que as mesofílicas.

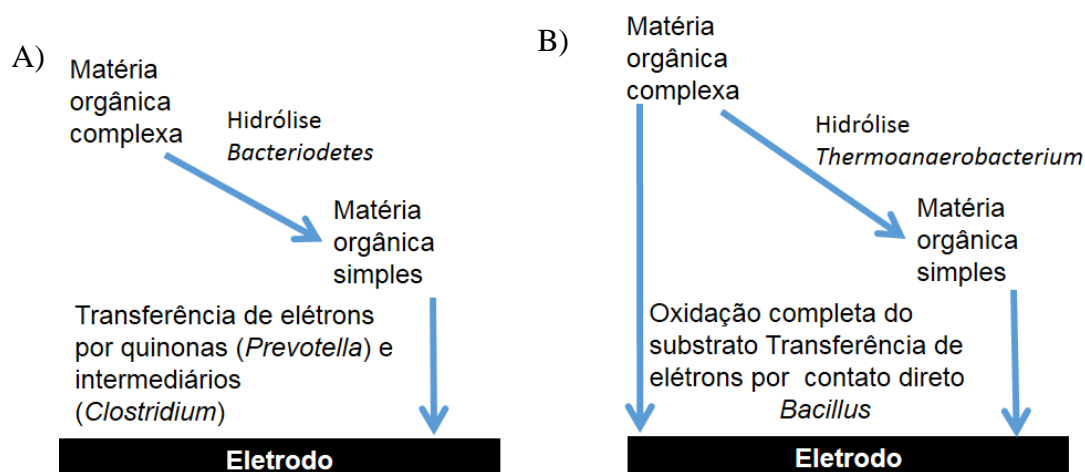


Figura 4.17: Mecanismos de transferência de elétrons sugerido pelos gêneros mais abundantes nas CCM mesofílica (A) e termofílica (B).

Outros microrganismos comumente reportados como bio-eletrogênicos no ânodo das CCM, como, *Geobacter*, *Shewanella* e *Thermincola* foram observados, porém em abundâncias relativas inferiores a 0,1% e por isso não são destacadas por este trabalho.

Com relação a comunidade microbiana presente no cátodo, pouco se sabe sobre o papel deste microrganismo, visto que a maioria dos trabalhos não usam microrganismos neste compartimento. Além disso, os trabalhos que fizeram o sequenciamento massivo da comunidade microbiana presente no catodo não usaram uma CCM sem membrana de íon seletivo, formando assim uma comunidade microbiana diferente da observada neste trabalho.

4.4 Considerações finais

Os resultados indicaram que a temperatura e o TDH desempenharam importantes papéis na geração de energia elétrica direta, na remoção de matéria orgânica, na adesão e na comunidade microbiana da CCM sem membrana de íon seletivo, validando as sub-hipóteses 1 e 2 deste trabalho referente a influência destes parâmetros no desempenho da CCM.

A redução do TDH permitiu maior geração de energia e maior dominância na comunidade microbiana e menor eficiência de remoção de matéria orgânica e menor adesão da comunidade microbiana ao eletrodo. O TDH de 2 h foi o mais favorável para a geração de energia (4,8 e 40,6 mV em condição mesofílica e termofílica, respectivamente). Enquanto que longos TDH (24 h) removeram mais eficientemente a matéria orgânica (92 e 72% de eficiência de remoção de DQO nas CCM operadas com TDH de 24 h e em condição mesofílica e termofílica, respectivamente), porém geraram menores valores de tensão elétrica (0,2 e 12,8 mV nas CCM operadas com TDH de 24 h e em condição mesofílica e termofílica, respectivamente). Como a relação entre a remoção de matéria orgânica e a geração de energia elétrica direta pela CCM sem membrana de íons seletivo é inversamente proporcional. Quanto menor a eficiência média de remoção de DQO, maior a tensão elétrica gerada pela CCM. Desta forma, é necessário balancear os benefícios alcançados tanto no suprimento da demanda energética quanto na melhora da qualidade ambiental da água residuária para que esta tecnologia possa cumprir seu duplo papel, visto que esses objetivos são antagônicos.

As condições termofílicas apresentaram uma comunidade microbiana mais dominante que as mesofílicas o que favoreceu a geração de energia elétrica quando se compara o desempenho entre as duas condições de temperatura estudadas. A menor adesão microbiana ao eletrodo em condição termofílica também colaborou com a maior geração de energia elétrica nesta condição de operação da CCM.

A eficiência de remoção de DQO foi maior em CCM operadas em condição mesofílica do que termofílica devido a maior constante cinética aparente apresentada nesta condição ($0,083 \text{ h}^{-1}$) quando comparado com a na condição termofílica ($0,035 \text{ h}^{-1}$). A maior diversidade da comunidade microbiana e maior concentração de biomassa aderida aos eletrodos nas CCM operadas a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ também favoreceram a maior remoção de matéria orgânica em condição mesofílica do que condição termofílica.

Os baixos valores de eficiência Coulombica sugerem que a maior parte da matéria orgânica não foi usada pelos microrganismos redutores do ânodo para a geração de energia elétrica. Ademais, os outros microrganismos não-bioeletrogênicos presentes no ânodo, como os metanogênicos e os microrganismos facultativos, e os presentes no cátodo exerceram um papel importante na remoção de matéria orgânica da água residuária.

As comunidades microbianas do ânodo e do cátodo da CCM operada em condição mesofílica e termofílica foram caracterizadas em profundidade por meio do sequenciamento massivo Illumina. A comunidade microbiana do ânodo apresentou diferentes gêneros dominantes dependendo da temperatura de operação. Na CCM mesofílica, os gêneros

Clostridium (34%), *Bacteriodes* (10%) e *Prevotella* (14%) foram abundantes sugerindo um processo de transferência de elétrons por meio de mediadores que resultou na menor geração de tensão elétrica. Em condição termofílica houve maior abundância relativa dos microrganismos *Thermoanaerobacterium* e *Bacillus* que permitem a transferência de elétron direta ao eletrodo por meio do contato direto e de flagelo, o que favoreceu a maior geração de energia na condição termofílica do que mesofílica.

Embora os resultados aqui obtidos sejam encorajadores, uma questão importante para futuros estudos é uma melhor compreensão da comunidade microbiana presente no cátodo e de como se pode aumentar a simbiose entre os microrganismos redutores do ânodo e os demais (arqueias metanogênicas, bactérias fermentativas e redutoras de sulfato) para que haja uma geração de energia contínua e estável.

5 INFLUÊNCIA DA RAZÃO DE RECIRCULAÇÃO NO CÁTODO DA CCM E DA TEMPERATURA DE OPERAÇÃO DA CCM NA REMOÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA E GERAÇÃO DE ENERGIA

5.1 Introdução

Muitos fatores de configuração e de operação da célula influenciam a geração de bioeletricidade em CCM. A razão de recirculação (R, razão entre a vazão de recirculação e a vazão afluyente) no cátodo, também, é um destes fatores, pois a recirculação afeta a velocidade global de reação, o fluxo de transferência de massa e a adesão microbiana. Embora muitos estudos que avaliaram a influência dos parâmetros operacionais na CCM sejam reportados na literatura nos últimos anos, poucos avaliaram a influência deste em uma CCM sem membrana de íon seletiva.

Portanto, esta etapa do trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da razão de recirculação do compartimento catódico em CCM sem membrana de íons seletiva operadas em condições mesofílicas e termofílicas (25 °C e 55 °C, respectivamente) na remoção de matéria orgânica, na adesão microbiana e na geração de energia.

5.2 Material e Métodos

O protocolo experimental utilizado é semelhante ao descrito no item 4, no entanto o sistema de operação foi um pouco diferente como será descrito mais detalhadamente no item 5.2.1.

5.2.1 Operação da Célula a Combustível

As CCM foram construídas em acrílico com a seguinte configuração: 4,0 cm de diâmetro interno e 18,0 cm de comprimento (Figura 5.1). Os volumes total e útil da CCM foram 160 mL e 120 mL, respectivamente. A CCM foi separada em três câmaras: o ânodo (câmara anaeróbia), a zona intermediária e o cátodo (câmara aeróbia) com volumes úteis de 67,0, 6,0 e 47,0 mL, respectivamente. A zona intermediária entre o ânodo e o cátodo foi preenchida com pérolas de vidro de 5 mm de diâmetro (Sigma-Aldrich®) apoiadas em uma pequena grade de inox com abertura de 2 mm, presas nos flanges da CCM para atuar como barreira física para dificultar a difusão do oxigênio da câmara aeróbia (cátodo) para a câmara anaeróbia (ânodo) (JANG *et al.*, 2004 e WANG *et al.*, 2013). As CCM foram alimentadas

com o fluxo ascensional. Na câmara do cátodo (aeróbia), foi usado um aerador de aquário com difusor de microbolhas conectado na extremidade da mangueira de saída que fornecia 3,5 L ar min⁻¹. Acima da zona intermediária, havia uma entrada para a recirculação do efluente que era bombeado a partir de uma conexão em T de passagem lateral, instalado na saída do efluente. Para a alimentação e a recirculação do efluente na CCM foram usadas bombas peristálticas Miniplus Gilson[®].

Durante 43 dias, as CCM foram operadas com tempo de detenção hidráulica (TDH) total de 4 h e com diferentes razões de recirculação de 0, 1, 3, e 5 no cátodo da CCM operadas em condições mesofílicas e termofílicas, com temperatura controlada a 25 ± 1 °C e 55 ± 1 °C, respectivamente. A razão de recirculação (R) é definida como a relação entre a vazão de recirculação da fase líquida (Q_R) e a vazão afluyente como apresentado na Equação 5.1. As características de cada uma das condições estão descritas na Tabela 5.1.

$$R = \frac{Q_R}{Q} \quad (\text{Equação 5.1})$$

R: razão de recirculação
Q_r: vazão recirculada
Q: vazão afluyente

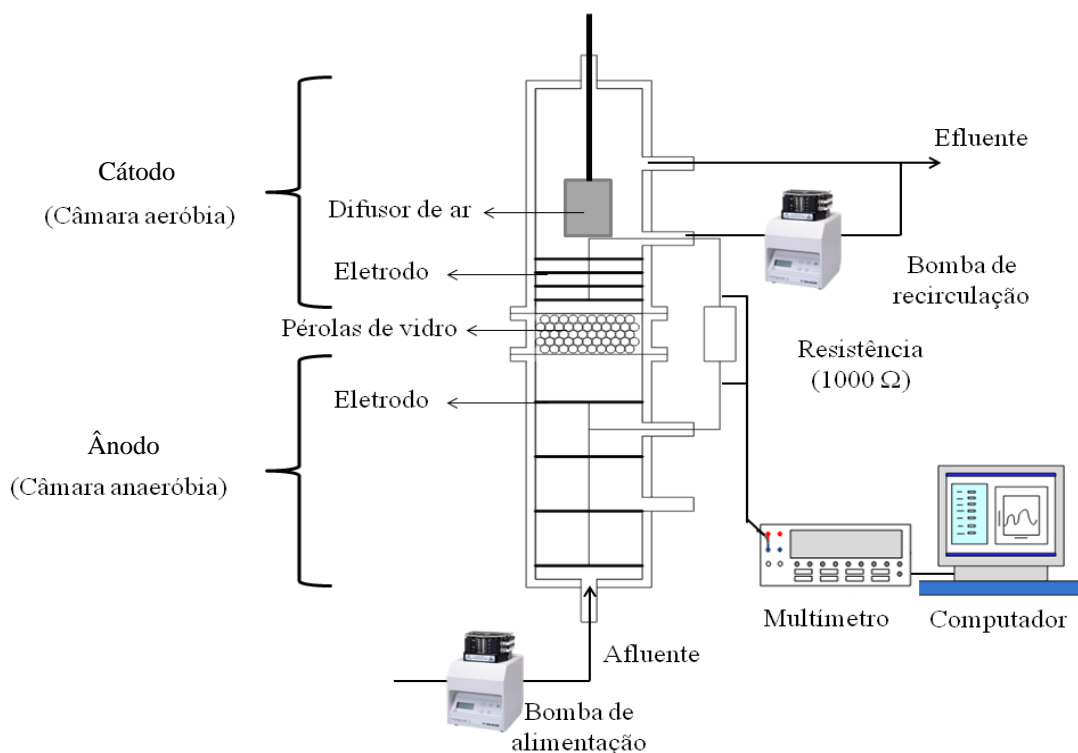


Figura 5.1: Esquema do aparato experimental usado para avaliar a influência da razão de recirculação do efluente no cátodo da célula a combustível microbiana (CCM).

Tabela 5.1: Condição de operação das CCM para avaliar a influência da razão de recirculação no cátodo.

Condição	1	2	3	4	5	6	7	8
Temperatura	Mesofílica (25 °C)				Termofílica (55 °C)			
Razão de recirculação (R)	0	1	3	5	0	1	3	5
TDH total (h)	4	4	4	4	4	4	4	4
Vazão afluyente (mL h ⁻¹)	30	30	30	30	30	30	30	30
Vazão de recirculação no cátodo da CCM (mL h ⁻¹)	0	30	90	150	0	30	90	150
Velocidade ascensional no cátodo (cm h ⁻¹)	3,12	6,24	12,48	18,72	3,12	6,24	12,48	18,72

5.3 Resultados e Discussão

5.3.1 Remoção de matéria orgânica

Os resultados indicam que a temperatura e a razão de recirculação (R) do cátodo da CCM afetaram a eficiência remoção de matéria orgânica pela célula a combustível microbiana (CCM), como pode ser observado na Tabela 5.2. A CCM operada a 25°C e com razão de recirculação de 5 atingiu a maior eficiência de remoção de matéria orgânica. Em contrapartida, a CCM incubada a 55°C sem razão de recirculação apresentou os menores valores de remoção de DQO. Os perfis temporais da concentração efluente de DQO e das eficiências de remoção de DQO das CCM operadas em diferentes razões de recirculação e temperaturas estão apresentados nas Figuras 5.2 e 5.3.

Tabela 5.2: Valores médios da concentração efluente de DQO e da eficiência de remoção de DQO (ξ_{DQO}) em todo o período experimental (PE) e no período de estado estacionário (*steady-state*, PS).

Condições de operação		ξ_{DQO} (%)		DQO efluente (mg L ⁻¹)	
Temperatura	R (h)	PE	PS	PE	PS
Mesofílico (25°C)	0	54 ± 7	56 ± 2	1789 ± 271	1652 ± 31
	1	55 ± 9	59 ± 2	1729 ± 320	1606 ± 35
	3	56 ± 8	61 ± 2	1678 ± 244	1510 ± 36
	5	60 ± 7	64 ± 1	1522 ± 221	1389 ± 32
Termofílico (55°C)	0	38 ± 5	40 ± 4	2411 ± 154	2316 ± 25
	1	46 ± 4	47 ± 1	2105 ± 148	2098 ± 34
	3	49 ± 7	52 ± 1	1989 ± 268	1883 ± 40
	5	56 ± 6	59 ± 1	1745 ± 217	1608 ± 26

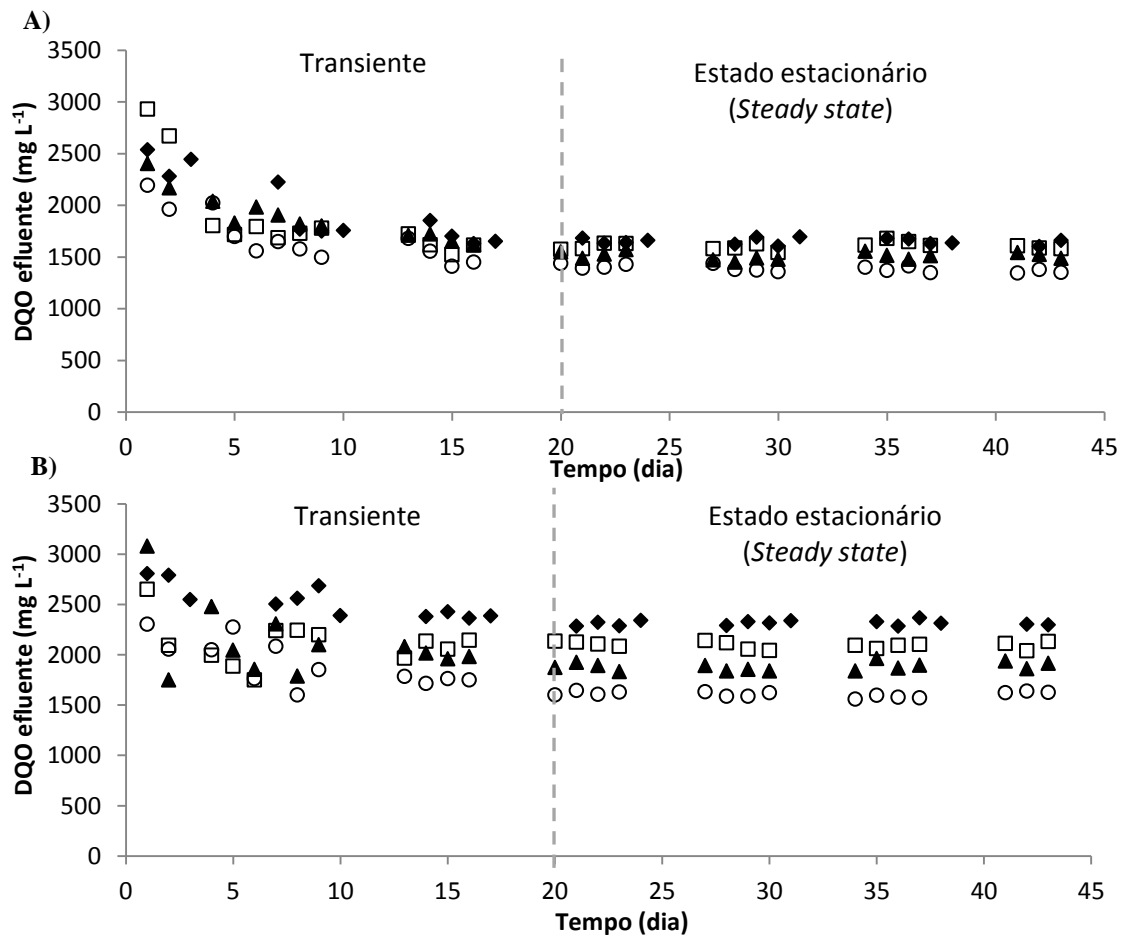


Figura 5.2: Variação temporal da concentração da material orgânica efluente (DQO_{efluente}) em condições mesofílicas (25°C, A) e termofílica (55°C, B) em diferentes razões de recirculação estudadas: 0 (◆), 1 (□), 3 (▲) e 5 (○).

Nas Figuras 5.2 e 5.3, pode-se observar que a DQO efluente e a eficiência de remoção de DQO foram instáveis até o 20º dia de operação em todas as condições estudadas. Essa instabilidade pode ser explicada tendo em conta que os microrganismos necessitam de um determinado período de tempo para se adaptar as condições operacionais antes de se atingir o estado estacionário. Depois deste período, a CCM atingiu o estado estacionário em termos da concentração efluente e da eficiência de remoção de DQO (o coeficiente de variação foi inferior a 5%).

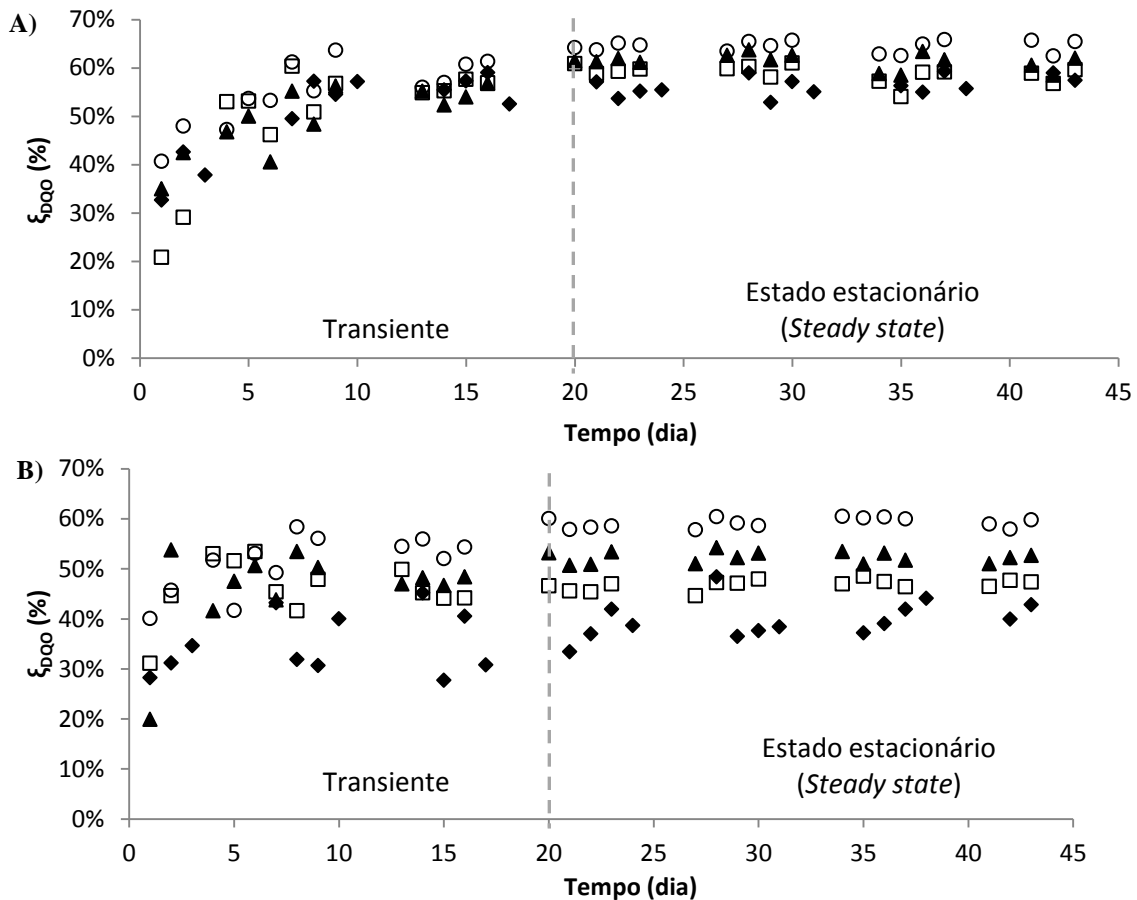


Figura 5.3: Variação temporal da eficiência de remoção da matéria orgânica (ξ_{DQO}) em condições mesofílicas (25°C, A) e termofílica (55°C, B) em em diferentes razões de recirculação estudadas: 0 (◆), 1 (□), 3 (▲) e 5 (○).

O aumento da razão de recirculação aumenta a velocidade superficial do líquido melhorando o fluxo de transferência de massa entre as fases líquida e sólida. Portanto, a velocidade global de consumo de matéria orgânica tende a aumentar, como consequência da diminuição da resistência de transferência de massa. Em contraste, o aumento da razão de recirculação, altera o padrão de escoamento do sistema de um fluxo pistonado para um sistema de mistura completa que tem a tendência para diminuir a conversão do substrato (FONTES LIMA & ZAIAT, 2012). Deste modo, a ação conjunta destes fenômenos conflitantes resultou em conversão superior da matéria orgânica quando houve o aumento da razão de recirculação de 0 para 5 no cátodo da CCM (Tabela 5.2). A eficiência de remoção de DQO passou de 56 % para 64% em condição mesofílica e de 40% a 59% em condição termofílica quando a CCM foi operada sem recirculação e com razão de recirculação de 5, respectivamente. Resultados similares de aumento da eficiência de remoção da matéria orgânica com o aumento da razão recirculação foram reportados em outros sistemas de tratamento de água residuária, como, reatores de manta de lodo (UASB – *upflow anaerobic sludge blanket*,) e reator de leito fixo (FONTES LIMA & ZAIAT, 2012).

Zhang *et al.* (2010) observaram que o aumento da razão de recirculação do ânodo de CCM de 0 para 500 levou a um biofilme mais denso que aumentou a eficiência de remoção de matéria orgânica pela CCM de 74% para 99% e de 54% para 84% quando a CCM foi operada com TDH de 40 e 10 h, respectivamente. Pham *et al.* (2008) observaram uma pequena melhora na remoção de DQO quando a CCM foi operada com razão de recirculação de 360 do que sem recirculação (a eficiência de remoção de matéria orgânica passou 20% quando a CCM foi operada sem recirculação para 24% com recirculação de 360, respectivamente).

As eficiências de remoção DQO em condições termofílicas foram menores que as observadas em condições mesofílicas devido à menor atividade dos microrganismos termofílicos e à origem do inóculo usado na CCM, como discutido no item 4.3. Além disso, a maior remoção de DQO em condições mesofílicas se deve também ao maior valor da constante cinética apresentada nestas condições do que a obtida em condições termofílicas, como foi discutido no item 4.3.1 e apresentado na Figura 4.5.

Para avaliar se houve diferença estatística entre as diferentes razões de recirculação do cátodo da CCM e as temperaturas de operação, foi realizado o teste estatístico de normalidade de D'Agostino usando o programa BioEstat[®] para determinar se os dados da concentração de DQO no efluente e da eficiência de remoção de DQO no período do estado estacionário (após o 20º dia de operação da CCM) seguem a distribuição normal e se são paramétricos. Para um nível de significância de 0,05, conclui-se que os dados são paramétricos, ou seja, seguem a distribuição normal. Para comparar todas as condições, usou-se o teste de hipótese ANOVA do programa BioEstat[®] e determinou-se que os dados são estatisticamente diferentes para o nível de significância de 0,05. Assim, conclui-se que a razão de recirculação do cátodo da CCM e a temperatura influenciaram na eficiência de remoção de matéria orgânica e que a melhor condição testada para remoção de matéria orgânica foi a de temperatura mesofílica (25 °C) operada com razão de recirculação no cátodo da CCM igual a 5.

5.3.2 Geração de energia elétrica

A energia gerada pela CCM foi impactada pelas condições operacionais de temperatura e razão de recirculação do efluente no cátodo da célula (Tabela 5.3). A CCM operada a 55°C e com razão de recirculação igual a 5 atingiu a maior geração média de tensão elétrica (68,2 mV). Por outro lado, a CCM operada a 25°C e sem recirculação apresentou os menores valores de energia elétrica gerada (2,6 mV). Na Figura 5.4, os perfis temporais da

tensão elétrica gerada pela CCM operadas em diferentes temperaturas e razões de recirculação estão apresentados.

Tabela 5.3: Valores médios de tensão elétrica e da condutividade da solução em todo o período experimental (PE) e no período de estado estacionário (*steady-state*, PS).

Condições operacionais		Tensão elétrica (mV)		Condutividade
Temperatura	R	PE	PS	($\mu\text{S cm}^{-1}$)
		PE		
Mesofílica (25°C)	0	7,8 ± 8,6	2,6 ± 0,6	1557 ± 207
	1	12,8 ± 2,8	12,7 ± 2,2	2008 ± 270
	3	19,0 ± 5,0	17,3 ± 4,1	1990 ± 188
	5	24,9 ± 6,0	23,8 ± 6,0	1853 ± 380
Termofílica (55°C)	0	47,2 ± 21,2	31,8 ± 6,1	1990 ± 378
	1	52,5 ± 12,8	47,3 ± 3,4	2010 ± 337
	3	59,6 ± 18,9	53,6 ± 4,2	2078 ± 247
	5	74,8 ± 21,7	68,2 ± 4,6	2260 ± 535

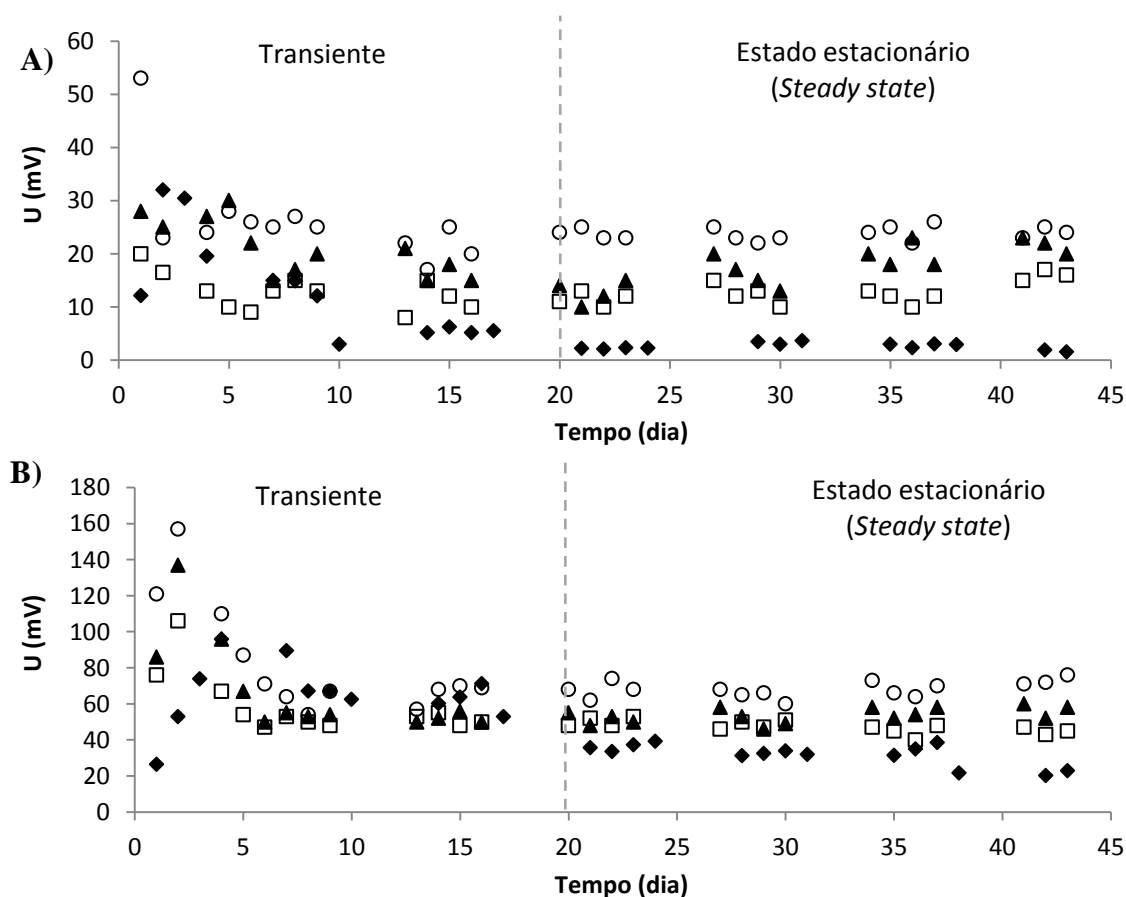


Figura 5.4: Variação temporal da tensão elétrica (U) em condições mesofílicas (25 °C, A) e termofílicas (55 °C, B) para diferentes razões de recirculação no compartimento catódico: 0 (◆), 1 (□), 3 (▲) e 5 (○).

Analisando a Figura 5.4, pode-se observar que as CCM geraram tensão elétrica desde o início da operação em todas as condições testadas, devido tanto a fatores químicos como os

biológicos, baseados na diferença de potencial entre as duas câmaras (ânodo e cátodo) (MIN *et al.*, 2005; KAEWKANNETRA *et al.*, 2011 e LI *et al.*, 2013).

Nota-se que as tensões elétricas geradas nas várias condições de temperatura e recirculação apresentaram padrão de instabilidade ao longo do tempo, como o que ocorreu no estudo do impacto do tempo de detenção hidráulico e da temperatura no desempenho da CCM (Figura 4.6 no item 4.2.2). Nos primeiros dias (do 1° até o 10° dia, no máximo), houve aumento da geração direta de energia elétrica até um ápice devido à biodegradação da matéria orgânica, que aumentou o número de elétrons gerados, acarretando na maior geração de tensão elétrica. Após este período, observa-se a subsequente queda da geração de energia elétrica e sua estabilização a partir do 20° dia até o final da operação (Figura 5.4).

Essa instabilidade na geração de tensão elétrica pode ter sido causada pelo aumento de biomassa. O incremento da concentração de biomassa na superfície do eletrodo do cátodo pela formação do biofilme pode ter inibido a reação entre os prótons e os elétrons diminuindo a geração de tensão elétrica pela CCM. Além disso, quanto maior a concentração de biomassa na superfície do eletrodo do cátodo, maior o consumo de oxigênio, conseqüentemente, há menor disponibilidade de oxigênio dissolvido para ser reduzido, diminuindo a geração de tensão elétrica da CCM (WEI *et al.*, 2013 e GONZALEZ DEL CAMPO *et al.*, 2013). No entanto, a falta de microrganismos aderidos aos eletrodos, também, faz com que haja diminuição da atividade de redução do ânodo diminuindo a geração de energia elétrica direta pela CCM. Portanto, é necessário um determinado valor ótimo de adesão microbiana que favoreça a máxima geração de energia elétrica pela célula.

As CCM termofílicas apresentaram maiores valores de tensão elétrica do que as CCM mesofílicas. Essa diferença provocada pela temperatura pode ser justificada pelo aumento da condutividade do meio líquido (Tabela 5.2). A condutividade iônica da água residuária efluente foi maior nas CCM termofílicas do que nas CCM mesofílicas, pois o aumento da temperatura proporciona maior mobilidade dos íons na solução aumentando a condutividade do meio líquido. Essa maior presença de íons diminuiu a resistência interna melhorando a transferência de cargas na CCM, que aumentou a geração de tensão elétrica pela CCM (WANG *et al.*, 2008; LARROSA-GUERREIRO *et al.*, 2010 KAEWKANNETRA *et al.*, 2011 e GONZALEZ DEL CAMPO *et al.*, 2013). Os valores médios de condutividade da solução estão apresentados na Tabela 5.2. De acordo com Wang *et al.* (2008) e Liu *et al.* (2005), a temperatura também afeta mais o potencial de eletrodo do cátodo do que o do ânodo. O aumento da temperatura eleva o potencial de eletrodo do cátodo melhorando a geração de tensão elétrica pela CCM.

A tensão elétrica da célula a combustível passou de 2,6 para 23,8 mV em condições mesofílicas e de 31,8 para 68,2 mV em condições termofílicas quando a CCM foi operada sem recirculação e com razão de recirculação de 5, respectivamente (Tabela 5.2). Portanto, a razão de recirculação do cátodo influenciou positivamente a tensão elétrica gerada pela CCM. A razão de recirculação e a tensão elétrica gerada pela CCM são diretamente proporcionais como se pode observar na Figura 5.5. A recirculação da fase líquida no cátodo da CCM aumentou a velocidade superficial do líquido e, conseqüentemente, a força de cisalhamento no cátodo, provocando um arraste maior dos microrganismos, diminuindo a concentração de biomassa aderida ao eletrodo no final da operação, como pode ser observado na Figura 5.6. A recirculação pode ter proporcionado um aumento da produção de polímero extracelular, tornando a adesão à superfície do eletrodo mais fraca. Como resultado, houve o desprendimento do biofilme da superfície do eletrodo pelas colisões entre partícula-partícula, causando a redução concentração de biomassa aderida com o aumento da razão de recirculação. Conseqüentemente, a menor concentração de biomassa aderida ao eletrodo do cátodo contribuiu para o aumento da tensão elétrica gerada pela CCM (Tabela 5.2). Além disso, o aumento da razão de recirculação do meio líquido no cátodo melhorou a transferência de massa entre o ar injetado e o meio líquido, aumentando a concentração e a disponibilidade de oxigênio para ser reduzido favorecendo a geração de energia elétrica pela CCM

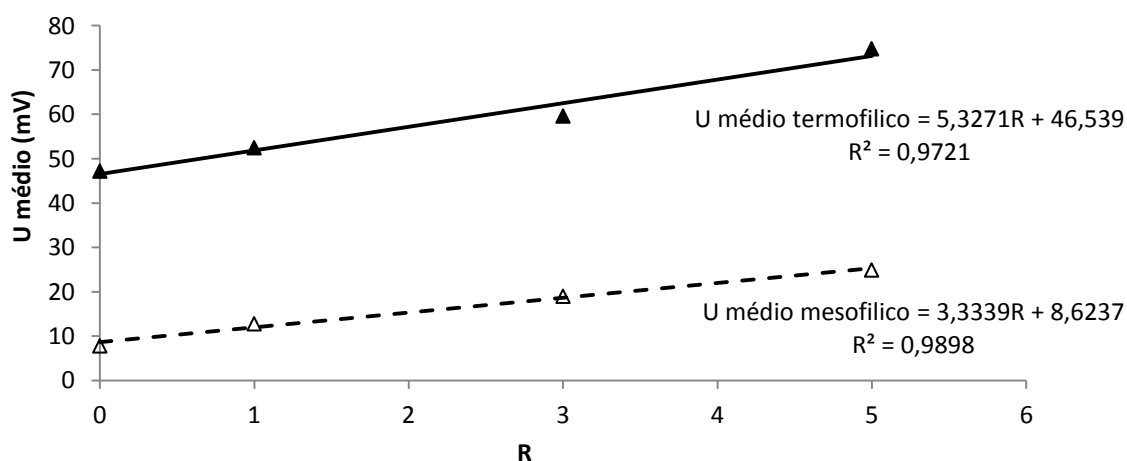


Figura 5.5: Relação entre a tensão elétrica média (U) e a razão de recirculação (R) no cátodo da CCM sem membrana trocadora de prótons em condições mesofílicas (Δ e tendência --) e termofílicas (\blacktriangle e tendência —).

A concentração de biomassa aderida nos eletrodos do cátodo diminuiu cerca de 50% quando foi usado a razão de recirculação igual a 5 comparado quando não foi usado recirculação no compartimento catódico, passando de 17 mg SVT cm^{-2} para 7,7 mg SVT cm^{-2} e de 3,1 mg SVT cm^{-2} para 1,7 mg SVT cm^{-2} em condições mesofílicas e termofílicas,

respectivamente. É importante ressaltar que a concentração de biomassa aderida no eletrodo do ânodo se manteve estável em torno de 9,5 e 6,0 mg SVT cm⁻² em condições mesofílicas e termofílicas, respectivamente.

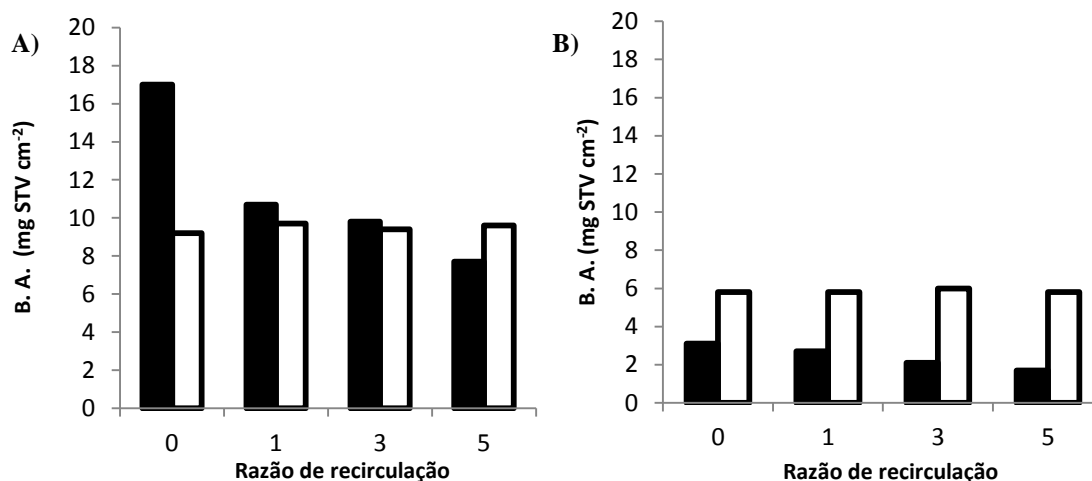


Figura 5.6: Concentração de biomassa aderida (B.A.) no ânodo (□) e cátodo (■) em condições mesofílicas (25 °C, A) e termofílicas (55 °C, B) para diferentes razões de recirculação no compartimento catódico: 0, 1, 3 e 5.

O efeito da razão de recirculação no cátodo da CCM na energia gerada foi consistente com outros estudos que usaram diferentes tipos de CCM e razões de recirculação em diferentes compartimentos da CCM. Zhang *et al.* (2010) observaram que o aumento da razão de recirculação do ânodo de CCM de 0 para 500 elevou a tensão elétrica gerada pela CCM de 38,4 para 56,2 mV e de 45,6 para 81,6 mV quando a CCM foi operada com TDH de 40 e 10 h, respectivamente. Pham *et al.* (2008) observaram quase o triplo da tensão elétrica quando a CCM foi operada com razão de recirculação de 360 no ânodo e do que sem recirculação (112 e 42 mV, respectivamente). Pham e seus colaboradores (2008) justificaram esse maior desempenho da CCM com recirculação devido a maior atividade dos microrganismos, medida pela concentração de moléculas de ATP (Adenosina Tri-fosfatada) que foi três vezes maior quando a célula foi operada com recirculação do que sem recirculação (60,0 e 18,6 pmol cm⁻²).

Na Figura 5.7, está apresentada a variação temporal da eficiência Coulombica nas diferentes razões de recirculação do efluente do cátodo (0, 1, 3 e 5) em condições mesofílicas (25°C, Figura 5.7A), e termofílicas (55°C, Figura 5.7B), respectivamente. Como este parâmetro é dependente da concentração de matéria orgânica consumida e da tensão elétrica gerada, observa-se instabilidade ao longo do período experimental em todas as condições de operação da CCM, devido à adaptação dos microrganismos as condições de operação até o 20º dia de operação.

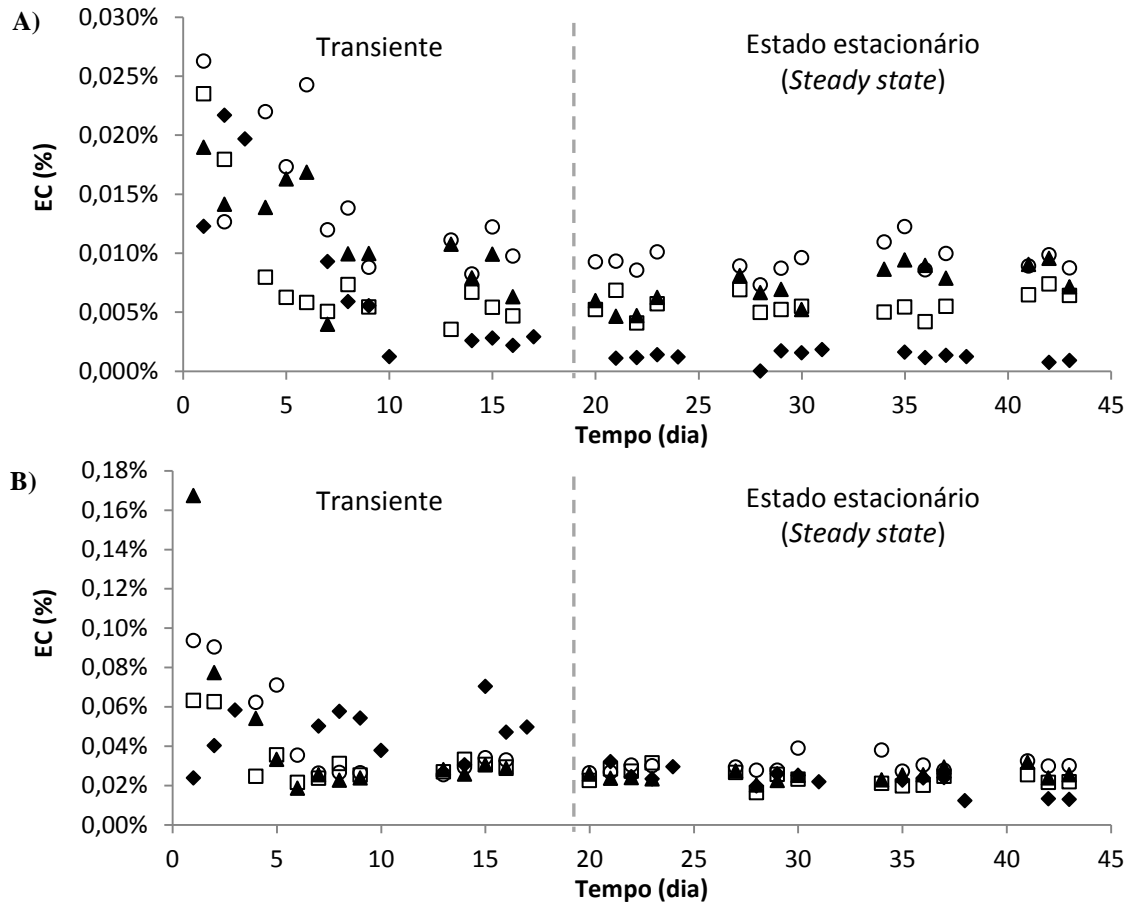


Figura 5.7: Variação temporal da eficiência Coulombica (EC) obtida pela CCM operada em condições mesofílicas (25°C, A) e termofílicas (55°C, B) e em diferentes razões de recirculação no cátodo estudados: 0 (◆), 1 (□), 3 (▲) e 5 (○).

A eficiência Coulombica média variou de 0,0043 a 0,0372% em todas as condições estudadas (Tabela 5.4). Esses valores de eficiência Coulombica podem ser considerados extremamente baixos, em particular se consideramos que a máxima eficiência esperada (para culturas puras de microrganismo bioeletrogênicos) não pode exceder 40% (GONZALEZ DEL CAMPO *et al.*, 2013; LOBATO *et al.*, 2012; RODRIGO *et al.*, 2009), pois esse é o valor típico de consumo catabólico da matéria orgânica (os 60% restantes são usados nas reações biológicas assimilativas). Essa observação também sugere que a maior parte da matéria orgânica não foi usada pelos microrganismos redutores do eletrodo do ânodo e que outros microrganismos presentes no ânodo, como, os metanogênicos, exerceram um papel importante na remoção de matéria orgânica da água residuária. (HUANG & LOGAN, 2008). Segundo Kaewkannetra *et al.* (2011), outra causa para a baixa eficiência Coulombica apresentada pelas CCM pode ser o efeito da difusão do oxigênio do cátodo para o ânodo que acarretaria na degradação aeróbica do substrato na câmara anaeróbia, resultando na perda de matéria orgânica disponível para a geração de eletricidade e reduzindo a eficiência Coulombica.

Tabela 5.4: Valores médios de eficiência Coulombica (EC) em todo o período experimental (PE) e no período de estado estacionário (*steady-state*, PS).

Condições operacionais		Eficiência Coulombica (%)	
Temperatura	R	PE	PS
Mesofílica (25°C)	0	0,0043 ± 0,006	0,0013 ± 0,0003
	1	0,0068 ± 0,004	0,0057 ± 0,001
	3	0,0092 ± 0,004	0,0073 ± 0,0017
	5	0,0118 ± 0,005	0,0094 ± 0,0012
Termofílica (55°C)	0	0,0332 ± 0,016	0,0222 ± 0,0059
	1	0,0283 ± 0,011	0,0237 ± 0,0039
	3	0,0337 ± 0,029	0,0250 ± 0,0028
	5	0,0372 ± 0,019	0,0301 ± 0,0038

Em condições mesofílicas, a eficiência Coulombica da CCM foi menor do que as observadas em condições termofílicas devido a menor tensão elétrica e a maior remoção de matéria orgânica obtidas. Com relação a razão de recirculação no cátodo da CCM, a eficiência Coulombica aumentou com o aumento da razão de recirculação, pois a CCM apresentou melhor geração de energia devido a menor adesão microbiana no eletrodo do cátodo e a melhor transferência de oxigênio para a solução.

Comparada com outros trabalhos, os valores de tensão elétrica e eficiência Coulombica obtidos pela CCM usada neste trabalho são inferiores aos observados na literatura devido a sua configuração, pois a CCM usada não usa membrana de íon seletivo e não emprega materiais nobres, como a platina, e outros catalisadores no cátodo, por exemplo, dióxido de manganês, para aumentar o desempenho eletroquímico da CCM. O uso destes materiais encarece os custos da implantação e operação da CCM no tratamento de águas residuárias (LI *et al.*, 2013).

Do mesmo modo que foi realizado para os dados de concentração de DQO no efluente e da eficiência de remoção de DQO no período do estado estacionário (após o 20º dia de operação da CCM), usou-se o teste estatístico de normalidade de D'Agostino do programa BioEstat[®] para determinar se os dados de tensão elétrica e eficiência Coulombica no período do estado estacionário seguem a distribuição normal e se são paramétricos. Para um nível de significância de 0,05, conclui-se que os dados de tensão elétrica são paramétricos, ou seja, seguem a distribuição normal; e os dados de eficiência Coulombica são não paramétricos, ou seja, não seguem distribuição normal. Para comparar todas as condições, usou-se o teste de hipótese ANOVA usando o programa BioEstat[®] e os dados de tensão elétrica gerada pela

CCM apresentaram diferença estatística para o nível de significância de 0,05. O teste de hipótese de para dados não-paramétricos de Kruskal-Wallis do programa BioEstat[®] foi usado e determinou-se que os dados de eficiência Coulombica são estatisticamente diferentes. Portanto, pode-se afirmar que a razão de recirculação no cátodo da CCM e a temperatura influenciaram na geração de energia elétrica direta pela CCM e que a melhor condição testada foi a célula operada em temperatura termofílica (55°C) com razão de recirculação no cátodo da CCM igual a 5.

5.4 Considerações Finais

A recirculação do efluente no cátodo da CCM e a temperatura de operação da CCM influenciaram a geração direta de energia elétrica, a remoção de matéria orgânica e a adesão microbiana em CCM sem membrana de íon seletivo, usando água residuária sintética à base de sacarose como combustível, corroborando com as sub-hipóteses 2 e 3 deste trabalho referente à influência destes parâmetros de operação no desempenho da CCM.

O aumento da razão de recirculação do compartimento catódico aumentou a geração de energia elétrica e a eficiência de remoção de matéria orgânica, uma vez que houve melhor transferência de massa do meio líquido para os microrganismos e melhor transferência do oxigênio do meio gasoso para o meio líquido. Além disso, quanto maior o valor da razão de recirculação do cátodo menor foi a concentração de biomassa aderida ao eletrodo o que facilitou a reação entre os prótons, os elétrons e o agente oxidante, o oxigênio, aumentando a tensão elétrica gerada pela célula a combustível. Desta forma, a aplicação da razão de recirculação de 5 foi a condição de operação mais favorável para geração de energia e para a remoção de matéria orgânica (23,8 e 68,2 mV em condição mesofílica e termofílica, respectivamente e 64%, 59% condição mesofílica e termofílica, respectivamente).

A condição termofílica (55°C) apresentou maior condutividade na água residuária efluente e menor concentração de biomassa aderida aos eletrodos do cátodo que favoreceram a maior geração de tensão elétrica da CCM, quando comparada com a condição mesofílica (25°C) e, conseqüentemente, apresentou os maiores valores de eficiência Coulombiana.

Os baixos valores de eficiência Coulombica, abaixo de 1%, sugerem que a maior parte da matéria orgânica não foi usada pelos microrganismos redutores do eletrodo do ânodo para a geração de energia elétrica. Ademais, os outros microrganismos não-bioeletrogênicos presentes no ânodo, como, os metanogênicos e os fermentativos, e no cátodo exerceram um papel importante na remoção de matéria orgânica da água residuária.

6 TRATAMENTO DE VINHAÇA DE CANA DE AÇÚCAR E GERAÇÃO DE ENERGIA ELÉTRICA DIRETA EM CÉLULA A COMBUSTIVEL MICROBIANA EM CONDIÇÃO TERMOFÍLICA: INFLUÊNCIA DO TEMPO DE DETENÇÃO HIDRÁULICA

6.1 Introdução

O setor sucroenergético, que engloba a produção de álcool e a de açúcar, é um dos setores que mais cresce e se desenvolve no Brasil. Segundo dados do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2015), foram colhidos 650 milhões de toneladas de cana de açúcar na safra 2014/2015, que produziram 28 bilhões de L de etanol, o dobro do produzido na safra 2004/2005 (BNDES, 2008). Entretanto, juntamente com os benefícios trazidos pelo crescimento desse setor, os problemas devido aos resíduos gerados pelo processamento da cana-de-açúcar, aumentam proporcionalmente. A vinhaça, resíduo desse processo, destaca-se pelo grande volume gerado (aproximadamente 13 litros de vinhaça são gerado por litro de álcool produzido) e pela elevada concentração de matéria orgânica, com DQO (Demanda Química de Oxigênio) de até 40 g L⁻¹ (SALOMON & LORA, 2009). Essas características permite que diversos processos biológicos sejam aplicados no tratamento da vinhaça como os descritos por Ferraz Júnior (2013) e Santos (2014).

Recentemente vários estudos avaliaram como as células à combustível microbiana (CCM) podem ser uma tecnologia alternativa ao tratamento convencional de águas residuárias, pois apresentam os maiores rendimentos na conversão da energia do substrato para energia elétrica.

O tempo de detenção hidráulica (TDH) é um importante parâmetros no tratamento de água residuárias que diretamente afeta a geração de energia elétrica, a eficiência de remoção de matéria orgânica e a comunidade microbiana (JADHAV & GHANGREKAR, 2009; ANH & LOGAN, 2010 e WEI *et al.*, 2013). No entanto, nada se sabe sobre o comportamento da CCM sem membrana alimentada com vinhaça da cana de açúcar em fluxo contínuo e em condições termofílicas (55°C) na geração de energia elétrica e na remoção de matéria orgânica.

Dessa forma, nesta fase do trabalho teve-se como objetivo de aplicar a CCM sem membrana de íon seletiva no tratamento da vinhaça de cana-de-açúcar, que é a principal água residuária do processo de produção do etanol. Além disso, avaliou-se a influência do TDH na

geração de energia elétrica e remoção de matéria orgânica a fim de obter parâmetros operacionais e contribuir com o avanço do conhecimento na área.

6.2 Material e Métodos

O protocolo experimental utilizado é semelhante ao descrito no item 4, no entanto a água residuária usada como combustível foi a vinhaça de cana-de-açúcar diferente da água residuária sintética usada na etapa anterior.

6.2.1 Operação da CCM

Durante 43 dias, duas CCM com tempo de detenção hidráulica (TDH) total de 8 e 24 h foram operadas em paralelo em condições termofílicas, com temperatura controlada a $55 \pm 2^\circ\text{C}$ e alimentada com água residuária do processo de produção de etanol a partir da cana-de-açúcar.

6.2.2 Água residuária

Na Tabela 6.1 está apresentada a composição da vinhaça de cana-de-açúcar coletada na Usina São Martinho (Pradópolis, SP, Brasil), produtora de etanol e açúcar, durante os meses de maio e junho de 2014. Bicarbonato de sódio (NaHCO_3) foi usado como tampão e para ajustar o pH a 7,0 na concentração de 8 g L^{-1} .

Tabela 6.1: Caracterização da vinhaça afluyente coletada em maio e junho de 2014.

Coleta	Maio/2014	Junho/2014	Média
Parâmetros	Valor (mg L^{-1})	Valor (mg L^{-1})	Valor (mg L^{-1})
DBO	11674	17300	14487
DQO	23650	32200	27925
COT	7752	10790	9271
Fósforo total	26	21	23,5
Nitrogênio Total	848	1243	1050
Cálcio	812	1663	1240
Magnésio	190	287	240
Potássio	2720	4000	3360
Sulfato	1726	1163	1445

6.3 Resultados e Discussão

6.3.1 Geração de energia

Na Figura 6.1, está apresentado a variação temporal da tensão elétrica gerada nas células a combustível microbiana (CCM) alimentada com vinhaça de cana-de-açúcar e operada em condições termofílicas e com tempo de detenção hidráulica (TDH) de 8 e 24 h.

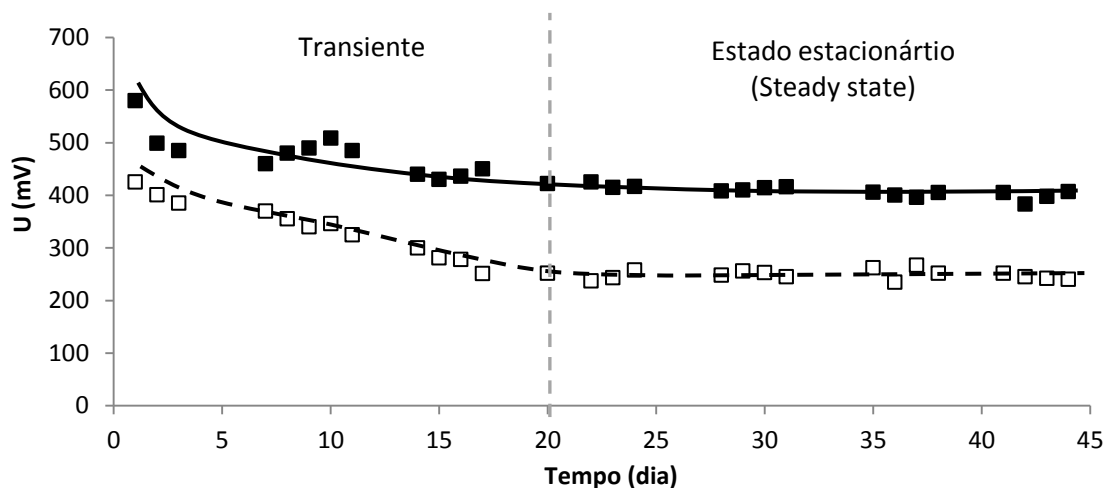


Figura 6.1: Variação temporal da tensão elétrica gerada (U) nas CCM operadas em condições termofílicas, alimentadas com vinhaça de cana-de-açúcar e com TDH de 8 (■) e 24 (□) h.

Desde o início da operação, as CCM geraram tensão elétrica devido tanto a fatores químicos como os biológicos baseados na diferença de potencial entre as duas câmaras (ânodo e cátodo) (MIN *et al.*, 2005; KAEWKANNETRA *et al.*, 2011 e LI *et al.*, 2013). Durante os primeiros vinte dias, observou-se uma diminuição na geração de energia (Figura 6.1) que pode ser devido à adesão de sólidos no eletrodo do ânodo e do cátodo, que impediu contato das bactérias suspensas com o eletrodo e afetou a transferência de elétrons no ânodo e, no cátodo, diminuiu a área disponível para a redução de oxigênio reduzindo a geração de tensão elétrica pela CCM (WEI *et al.*, 2013 e GONZALEZ DEL CAMPO *et al.*, 2013).

Após esses 20 dias de operação, as CCM atingiram o estado estacionário com valores médios de 407 e 250 mV para o TDH de 8 e 24 h, respectivamente. Com a diminuição do TDH, e conseqüentemente o aumento da carga orgânica volumétrica aplicada, houve melhora na geração de energia elétrica direta pela CCM, indicando que há melhor geração de energia em baixos TDH (8 h), como observado no ensaio realizado com água residuária sintética (item 4.3.2). Em baixos TDH, menor quantidade de matéria orgânica é completamente oxidada, resultando numa maior geração de ácidos orgânicos voláteis que podem ser usados pelos microrganismo exoeletrogênicos para a geração de energia elétrica ou podem ser

utilizados como mediadores para a redução do ânodo. Diferentemente, em longos TDH (24 h), a matéria orgânica é completamente metabolizada e os elétrons são usados em outros processos da digestão anaeróbia, como a metanogênese e a sulfetogênese, não permitindo que os elétrons sejam direcionados para a geração de energia elétrica. Além disso, baixos TDH selecionam uma comunidade microbiana mais dominante de microrganismos bioeletrogênicos favorecendo, também, o aumento da geração de energia com a redução do TDH, como foi observado no ensaio realizado com a água residuária sintética. Desta forma, o TDH é um dos parâmetros de controle mais importantes que afetam a geração contínua de eletricidade da CCM, uma vez que o TDH pode evitar o uso dos elétrons por outros microrganismos não-bioeletrogênicos e selecionar uma comunidade microbiana dominante dos microrganismos eletrogênicos.

O efeito do TDH na energia gerada pela CCM foi consistente com outros estudos que usaram diferentes tipos de CCM e de água residuária como combustível (YOU *et al.*, 2006; LIU *et al.*, 2008; JUANG *et al.*, 2012 e AKMAN *et al.*, 2013). Liu *et al.* (2008) estudaram diferentes TDH em CCM de câmara única com cátodo exposto ao ar tratando esgoto sanitário. Estes autores vararam o TDH entre 3 e 33 h e obtiveram a melhor densidade de potência (17 mW m^{-2}) no menor TDH usado. You *et al.* (2006) avaliaram a influência do TDH (de 2 a 30 h) na geração de energia usando esgoto sanitário como combustível em CCM com cátodo de tecido de carbono recoberto com platina ($0,15 \text{ mg cm}^{-2}$) e exposto ao ar. O sistema operado por You *et al.* (2006) apresentou a maior tensão elétrica gerada de 350 mV quando a CCM foi operada com TDH de 2 h. Quando a célula foi operada com TDH de 10 h a tensão elétrica gerada diminuiu 70% em relação o TDH ótimo (100 mV).

No entanto, há alguns estudos que relatam o efeito adverso de baixos TDH no desempenho da CCM (HUANG & LOGAN, 2008; RAHIMNEJAD *et al.*, 2011; LI *et al.*, 2013). Rahimnejad *et al.* (2011) testaram TDH entre 26 e 3,6 h em uma CCM de duas câmaras com membrana trocadora de prótons e mediadores elétricos no ânodo e no cátodo da CCM e observaram redução de 30% da densidade de potência máxima quando o TDH passou de 6,7 para 3,6 h (de 283 para 198 mW m^{-2}), causado pelo tempo de contato insuficiente entre os microrganismos aderidos no eletrodo e o substrato presente no meio líquido. Li *et al.* (2013) observaram o mesmo comportamento de diminuição da geração de energia elétrica quando o TDH passou de 5 dias para 3 dias em uma CCM tratando água residuária de carcaça de animais (de 570 para 550 mV).

A elevada condutividade da vinhaça de cana-de-açúcar, proveniente das altas concentrações de potássio e de sódio, proveniente da correção do pH com bicarbonato de

sódio (Tabela 6.1), pode ser um dos fatores que contribuíram para os altos valores de geração de tensão elétrica pela CCM, pois a alta condutividade diminui as perdas de resistência ôhmicas da célula a combustível (LIU *et al.*, 2005b). Os valores de condutividades dos ânodos e cátodos das CCM operadas com TDH de 8 e 24 h estão apresentados na Figura 6.2. Nota-se que os maiores valores de condutividade foram obtidos na CCM operada com TDH de 8 h (Figura 6.2A), mostrando que esta CCM apresenta maior concentração de íons na solução o que favoreceu a transferência de carga na CCM diminuindo as perdas ôhmicas e melhorando, conseqüentemente, a geração de tensão elétrica. O aumento da condutividade do combustível da CCM diminui a resistência interna no meio líquido para a geração de energia, pois facilita o transporte de íons no biofilme aderido aos eletrodos como foi observado por Torres *et al.* (2008). Huang & Logan (2008b) observam aumento de 245% da densidade de potência (de 140 para 500 mW m^{-2}) quando a condutividade da água residuária de indústria de papel passou de 0,8 para 10,2 mS cm^{-1} com adição da solução de tampão fosfato (100mM).

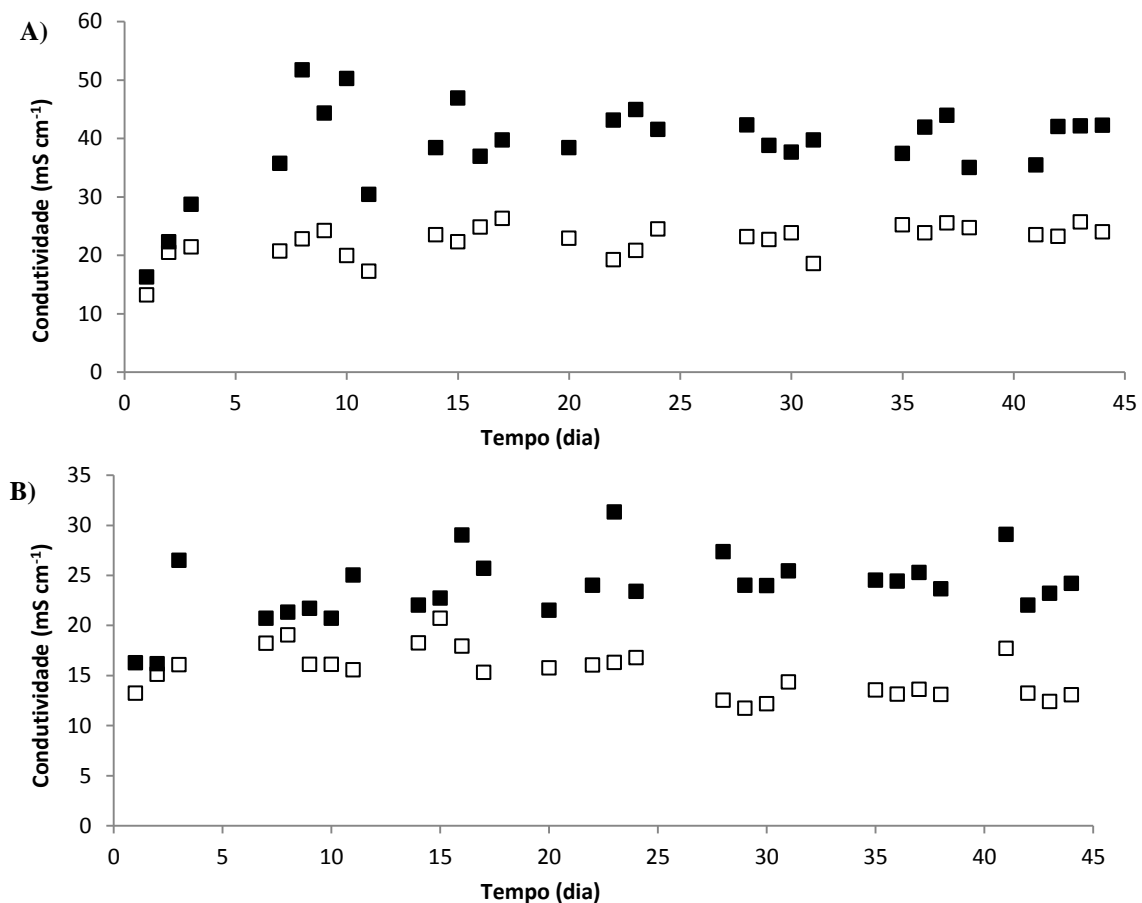


Figura 6.2: Variação temporal da condutividade nas CCM operadas com TDH de 8 (A) e 24 horas (B) nos ânodos (□) e cátodos (■).

Zhong *et al.* (2011) avaliaram 4 CCM com cátodo exposto ao ar e recoberto com $0,5 \text{ mg Pt cm}^{-2}$ e operadas com TDH de 48 h e com o efluente conectados em série operadas no tratamento de água residuária do processo de produção de álcool. Estes autores observaram que aumentando a carga orgânica de $1,55 \text{ Kg DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ para $3,20 \text{ Kg DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ a geração de energia elétrica aumentou de 92 mW m^{-2} para 115 mW m^{-2} . Esse comportamento também foi observado neste trabalho que o aumento da carga orgânica foi devido a redução do TDH, aumentando a carga orgânica aplicada de $30 \text{ Kg DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ para $90 \text{ Kg DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ (quando a CCM foi operada com TDH de 24 e 8 h) a geração de energia elétrica aumentou de 250 mV para 407 mV .

6.3.2 Tratamento da vinhaça de cana de açúcar

A variação temporal das concentrações de DQO da vinhaça de cana de açúcar afluyente e efluente do ânodo e do cátodo das CCM operadas em condições termofílicas e com tempo de detenção hidráulico (TDH) de 8 e 24 horas estão apresentadas na Figura 6.3.

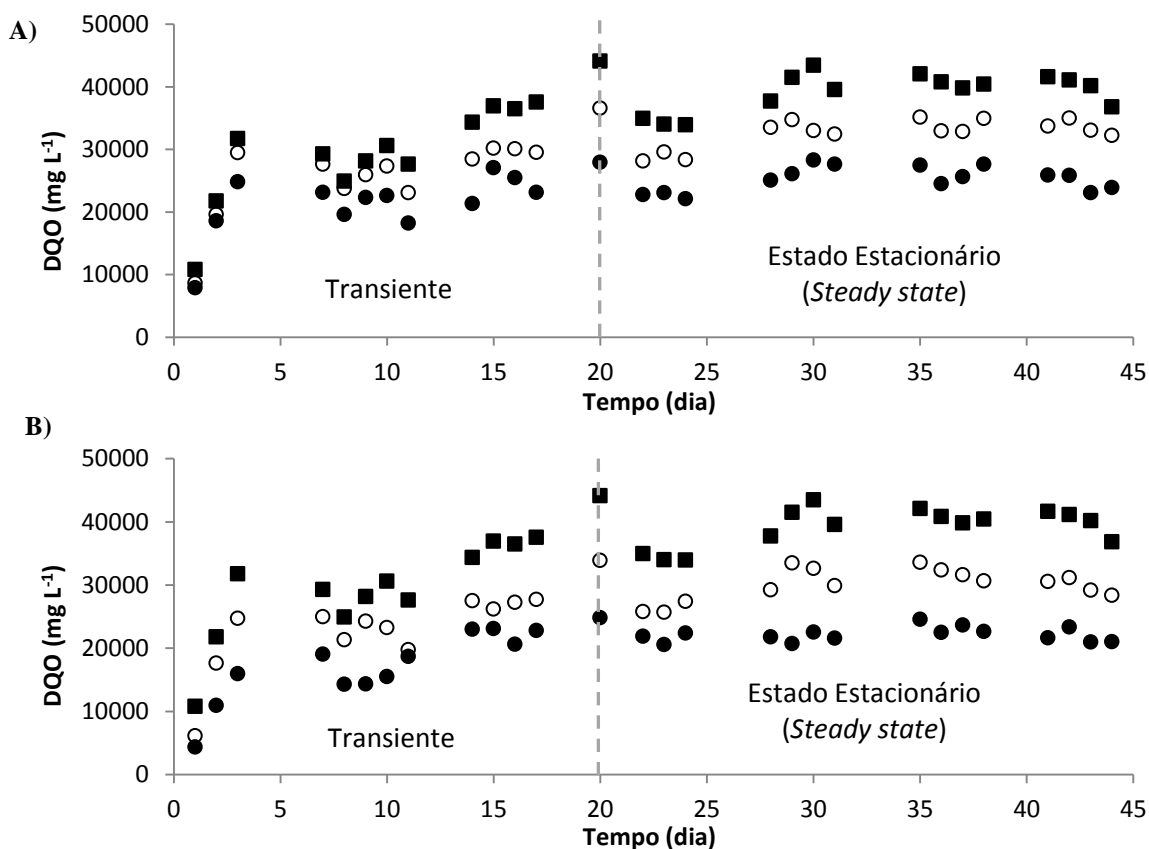


Figura 6.3: Variação temporal da concentração de matéria orgânica nas CCM alimentadas com vinha de cana-de-açúcar com TDH de 8 (A) e 24 (B) h: afluyente (■), efluente do ânodo (○) e do cátodo (●).

Analisando-se a Figura 6.3, pode-se observar que a DQO no efluente do ânodo e do cátodo cresceram ao longo dos primeiros vinte dias de operação, mostrando a adaptação dos microrganismos às condições operacionais dos sistemas visto que o inóculo do ânodo foi proveniente de reator anaeróbio de manta de lodo operado a condição mesofílica (temperatura ambiente, aproximadamente a 30°C). Segundo Hirasawa *et al.* (2008), o lodo anaeróbio utilizado apresenta elevada diversidade microbiana que possibilita que o inóculo se adapte facilmente as condições operacionais impostas ao sistema, como baixos TDH e elevadas temperaturas. Esse período de adaptação foi de duração igual ao observado nos ensaios anteriores em que se usou água residuária sintética a base de sacarose como fonte de carbono (item 4.3.1) mesmo a vinhaça apresentando componentes mais complexos do que a água residuária sintética (ZHONG *et al.*, 2011). Depois deste período inicial de aclimação, a concentração de matéria orgânica efluente na CCM se tornou constante ao redor de 32900 e 30000 mg L⁻¹ no ânodo para o TDH de 8 e 24 h, respectivamente, e ao redor de 25500 e 22100 mg L⁻¹ no cátodo para o TDH de 8 e 24 h, respectivamente.

A eficiência de média de remoção de matéria aumentou com o prolongamento do TDH (Figura 6.4). A eficiência média de remoção de DQO aumentou de 17% para 23% no ânodo e de 36 % para 43% no sistema total (ânodo e cátodo) quando o TDH passou de 8 h para 24 h. Esses valores de eficiência global de remoção de DQO são baixos quando comparados com os valores obtidos quando água residuária sintética a base de sacarose foi usada (no item 4.2.1), pois os valores de DQO efluente da CCM quando alimentado com vinhaça de cana-de-açúcar são elevados devido aos compostos recalcitrantes presentes no efluente real diferente da água residuária sintética que continha apenas matéria orgânica de fácil degradação (sacarose) (ZHONG *et al.*, 2011).

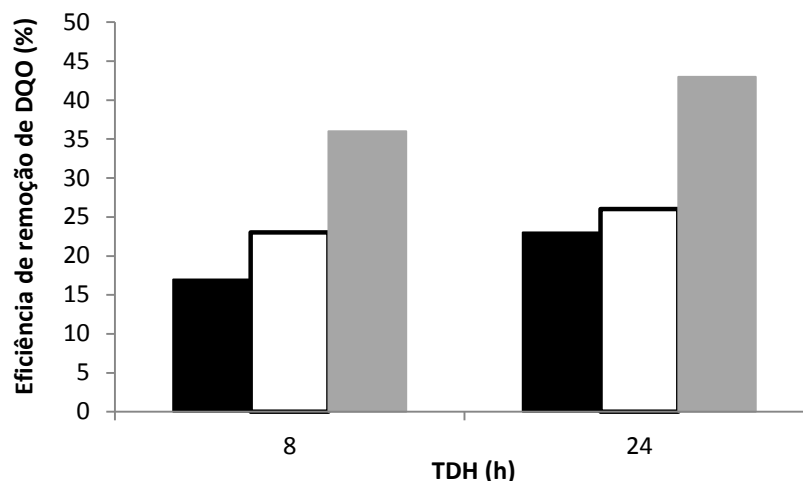


Figura 6.4: Comparação dos valores médios de eficiência de remoção de matéria orgânica no ânodo (■) no cátodo (□) e global do sistema (■) com CCM operada em condições termofílicas usando vinhaça de cana-de-açúcar como combustível e TDH de 8 e 24 horas.

A eficiência de remoção de matéria orgânica por cada um dos compartimentos (ânodo e cátodo) está apresentada na Figura 6.4. Cada compartimento contribuiu de maneira similar para a eficiência total de remoção de DQO da vinhaça de cana-de-açúcar. Para os dois TDH estudados, as eficiências médias de remoções de DQO no ânodo (17% - 23%) e no cátodo (23% - 26%) foram praticamente iguais.

Como esperado, o TDH influenciou positivamente a eficiência de remoção de DQO da vinhaça de cana-de-açúcar pela CCM. Quanto maior o TDH, maior a eficiência de remoção de DQO. Com o aumento do TDH, maior o tempo de contato entre os microrganismos e o substrato permitindo maior eficiência de remoção de matéria orgânica (ZHONG *et al.*, 2011). Além disso, quanto maior o TDH, menor o arraste de biomassa, proporcionando maior concentração de microrganismos dentro da CCM o que incrementou a remoção do substrato orgânico. As concentrações de sólidos aderidos no ânodo e no cátodo no final da operação para os diferentes TDH estão apresentadas na Figura 6.5.

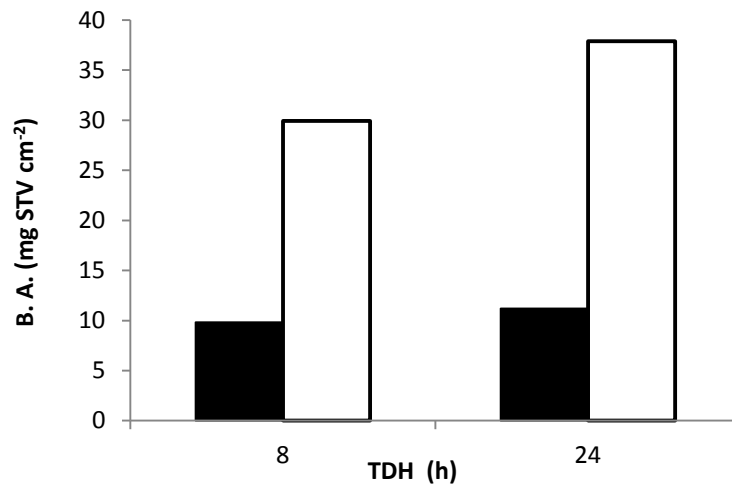


Figura 6.5: Comparação da concentração de biomassa aderida (B. A.) ao ânodo (■) e ao cátodo (□) nas CCM operadas em condições termofílicas, alimentadas com vinhaça de cana-deaçúcar e TDH de 8 e 24 h.

Outros pesquisadores observaram o aumento da eficiência de remoção da DQO com a diminuição do TDH ou com a redução da carga orgânica aplicada usando diferentes substratos, microrganismos, eletrodos e configurações de CCM (YOU *et al.*, 2006 e WEI *et al.*, 2013, ZHONG *et al.*, 2011). Zhong *et al.* (2011) avaliaram 4 CCM com cátodo exposto ao ar e recoberto com 0,5 mg Pt cm⁻² e operadas com TDH de 48 h e com o efluente conectados em série tratando água residuária do processo de produção de álcool. Estes autores observaram que diminuindo a carga orgânica de 6,00 kg DQO m⁻³ d⁻¹ para 1,55 kg DQO m⁻³ d⁻¹ a eficiência de remoção de DQO pela CCM aumentou de 50 % para 70%.

É importante ressaltar que embora tenham sido observadas alterações significativas na taxa de consumo de matéria orgânica para os diferentes TDH, a atividade eletrogênica dos microrganismos não apresentou alterações significativas podendo ser claramente visto na Figura 6.6, onde se apresenta o perfil temporal da eficiência Coulombica calculadas usando a energia gerada e a DQO consumida em todo o sistema.

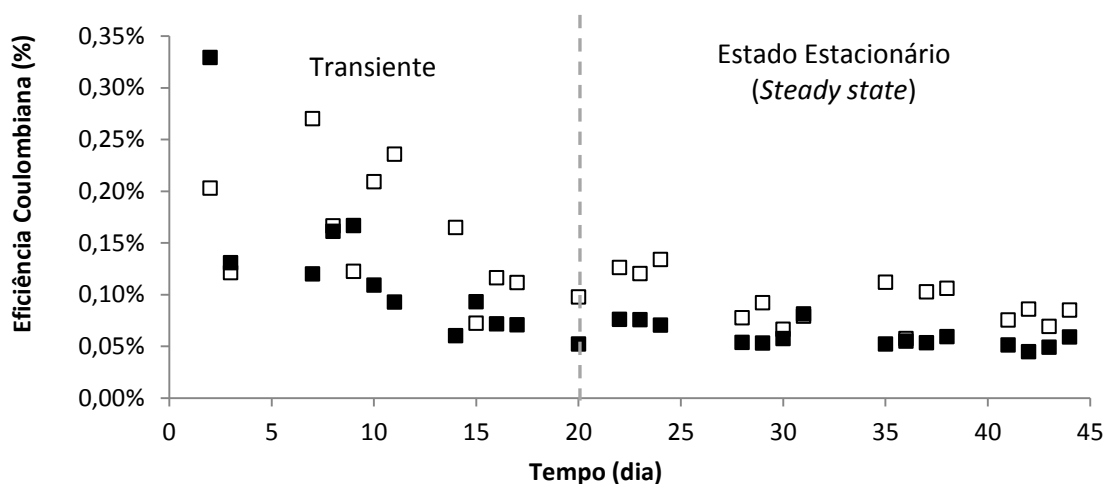


Figura 6.6: Perfil temporal da Eficiência Coulombiana para CCM sem membrana trocadora de prótons alimentada com vinhaça e operada em condições termofílicas e com TDH de 8 (■) e 24 (□) horas.

As CCM apresentaram valores médios de 0,05% e 0,08% para o TDH de 8 e 24 h respectivamente. Esses valores de eficiência Coulombica podem ser considerados baixos, em particular se considerar que a máxima eficiência esperada (para culturas puras de microrganismo bioeletrogênicos) não pode exceder 40% (GONZALEZ DEL CAMPO *et al.*, 2013 e RODRIGO *et al.*, 2009), pois esse é o valor típico de consumo catódico da DQO (os 60% restantes são usados nas reações biológicas assimilativas).

Estes baixos valores indicam que a maior porção da DQO foi processada por microrganismos não-eletrogênicos. Assim, a matéria orgânica metabolizada liberou elétrons que foram usados por outros microrganismos presentes no ânodo, como as bactérias acidogênicas e redutoras de sulfato e as arqueas metanogênicas; e no cátodo para o crescimento aeróbio e reprodução dos microrganismos (HUANG & LOGAN, 2008). Como não há membrana de íon seletivo na CCM, outra causa para a baixa eficiência Coulombica apresentada pelas CCM pode ser o efeito da difusão do oxigênio do cátodo para o ânodo que acarretaria na degradação aeróbica do substrato na câmara anaeróbia, resultando na perda de matéria orgânica disponível para a geração de eletricidade e reduzindo a eficiência Coulombica (KAEWKANNETRA *et al.*, 2011 e ZHONG *et al.*, 2011).

6.4 Considerações Finais

A CCM sem membrana de íon seletiva e operada em condição termofílica foi capaz de remover a matéria orgânica da vinhaça de cana-de-açúcar e produzir energia elétrica direta. O

tempo de detenção hidráulica desempenhou um papel importante na geração direta de energia elétrica e na remoção de matéria orgânica pela CCM. Os resultados validam a sub-hipótese 4 deste trabalho referente a possibilidade da CCM ser uma tecnologia no tratamento de resíduos agroindustriais, como, a vinhaça de cana de açúcar.

Baixo TDH apresentou maior geração de energia e menor eficiência de remoção de matéria orgânica e menor adesão da comunidade microbiana ao eletrodo. O TDH de 8 h foi o mais favorável para a geração de energia, apresentando o maior valor médio no estado estacionário (407 mV) e a menor eficiência de remoção da matéria orgânica (36 %). Enquanto que longo TDH (24 h) removeu mais eficientemente a matéria orgânica (43% de eficiência de remoção de DQO), porém geraram menores valores de tensão elétrica (250 mV). Como a relação entre a remoção de matéria orgânica e a geração de energia elétrica direta pela CCM sem membrana de íons seletivo é inversamente proporcional. Quanto menor a eficiência média de remoção de DQO, maior a tensão elétrica gerada pela CCM. Desta forma, é necessário balancear os benefícios alcançados tanto no suprimento da demanda energética quanto na melhora da qualidade ambiental da água residuária para que esta tecnologia possa cumprir seu duplo papel, visto que esses objetivos são antagônicos.

A elevada condutividade da vinhaça de cana-de-açúcar proveniente da elevada concentração de sódio, potássio e sulfato ajudou na transferência de carga da CCM diminuindo as perdas por resistência ôhmicas no sistema, melhorando, conseqüentemente, a geração de energia elétrica.

Os baixos valores de eficiência Coulombica, menores que 1%, sugerem que a maior parte da matéria orgânica presente na vinhaça de cana-de-açúcar não foi usada pelos microrganismos redutores do eletrodo do ânodo para a geração de energia elétrica. Ademais, os outros microrganismos não-bioeletrogênicos presentes no ânodo, como, os metanogênicos e os sulfetogênicos, e no cátodo exerceram um papel importante na remoção de matéria orgânica da água residuária.

Embora os resultados obtidos neste estudo sejam encorajadores, uma melhor compreensão da comunidade biológica e dos mecanismos de geração de energia são necessários para ajudar a implementar esta tecnologia no tratamento de vinhaça de cana-de-açúcar em larga escala. Além disso, outras configurações de CCM podem ser testadas para melhorar a geração de energia elétrica usando como combustível a vinhaça de cana-de-açúcar.

7 INFLUÊNCIA DA RELAÇÃO DE CARBONO, NITROGÊNIO E FÓSFORO NA PRODUÇÃO DE ENERGIA ELÉTRICA EM CÉLULA A COMBUSTÍVEL MICROBIANA DE DUAS CÂMARAS TRATANDO ÁGUA RESIDUÁRIA DE PRODUÇÃO DE VINHO

7.1 Introdução

A indústria de vinhos é uma das principais agroindústrias nos países europeus banhado pelo Mar Mediterrâneo (RODRIGUEZ *et al.*, 2007). A água residuária de produção de vinho contém altas quantidade de material orgânico biodegradável (até 20 g DQO L⁻¹ e 15 g DBO L⁻¹) e baixas concentrações de nitrogênio e fósforo (GANESH *et al.*, 2010; VLYSSIDES *et al.*, 2005). Portanto, o tratamento e a disposição de água residuária de produção de vinho é um dos principais problemas da indústria produtora de vinho.

As CCM podem usar diferentes tipos de substratos, incluindo águas residuárias sintéticas baseados em substâncias puras e água residuária complexas (WANG *et al.*, 2008; GHANGREKAR & SHINDE, 2008; MIN & LOGAN, 2004; LU *et al.*, 2009; HUANG *et al.*, 2009; LIU *et al.*, 2005; HEILMANN & LOGAN, 2006). Embora muitos estudos afirmassem que CCM podem tratar águas residuárias agroindústrias, somente alguns reportam o tratamento de água residuária de produção de vinho nesse sistema bioeletroquímico (CUSICK *et al.*, 2010) e muito trabalho é necessário para desenvolver essa tecnologia. A avaliação de como a relação desbalanceada de DQO/N e DQO/P, característico das águas residuárias de produção de vinho, pode afetar o desempenho do sistema bioeletroquímico é um desafio importante para que as CCM possam ser usadas como uma tecnologia no tratamento desta águas residuárias. Portanto, o objetivo deste trabalho foi estudar a partida e a influência da relação desbalanceada de DQO/nutrientes na remoção de matéria orgânica e geração de energia pelo tratamento de águas residuárias de produção de vinho em CCM.

7.2 Material e Métodos

7.2.1 Célula a combustível microbiana (CCM) e operação

As CCM foram construídas em acrílico com a seguinte configuração: 4,0 cm de diâmetro interno e 18,0 cm de comprimento. No flange da CCM, membrana Sterion[®] foi

usada para dividir a CCM em dois compartimentos: ânodo e cátodo com volume de 70 e 100 mL, respectivamente (Figura 7.1). A membrana catiônica foi pré-condicionada usando o seguinte tratamento sequencial: 1 hora em solução de 3% (v/v) de peróxido de hidrogênio, 1 hora em e água mili-Q, 1 hora em solução de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido sulfúrico e depois guardava-se em água mili-Q.

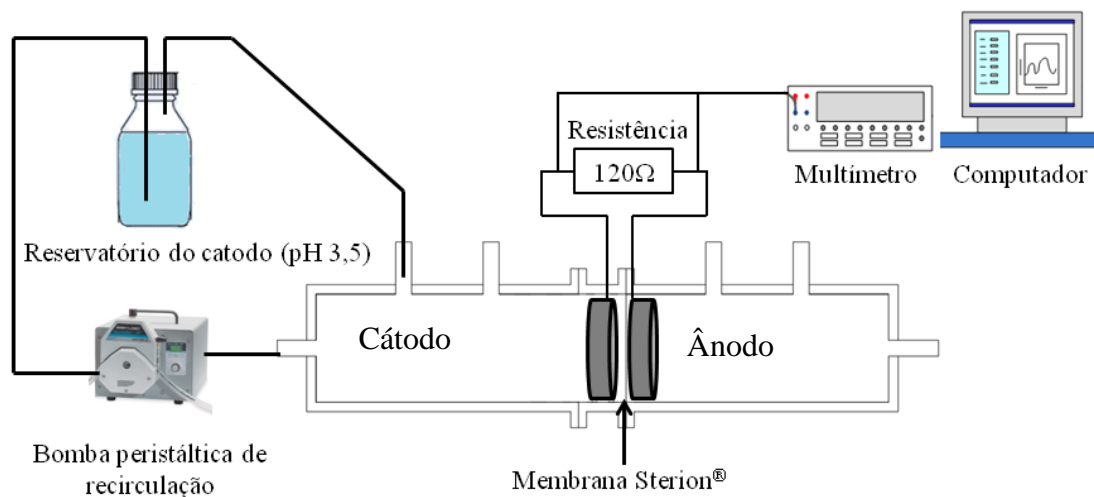


Figura 7.1: Esquema do sistema da célula a combustível microbiana de duas câmaras usada no tratamento de água residuária de produção de vinho.

Os eletrodos usados no cátodo e no ânodo foram feltro de carbono (KFA10, SGL Carbon Group[®]) e não foram cobertos com substâncias que possam melhorar a transferência de elétrons dos microrganismos para o eletrodo ou que melhorassem a redução do oxigênio no cátodo. A Tabela 7.1 apresenta as características físicas do feltro de carbono. Os eletrodos de feltros de carbono foram tratados sequencialmente a 450 °C por 1 hora e mergulhados por 24 horas em solução de ácido nítrico de 25% (v/v) para remover qualquer remanescente de microrganismo e de gordura. Foram utilizados 1 eletrodos de 3,0 cm de diâmetro e 0,5 cm de espessura ($7,06 \text{ cm}^2$ de área cada eletrodo) em cada um dos compartimentos e fios de aço inoxidável para uni-los. Para diminuir a resistência interna (relacionada com as perdas ôhmicas), ambos os eletrodos foram dispostos em contato direto com a membrana. Uma resistência de $120 \text{ } \Omega$ foi conectada aos eletrodos.

Tabela 7.1: Características do feltro de carbonos usado como eletrodo na CCM de duas câmaras com membrana de íon seletivo.

Parâmetros	Tecido de carbono
Área específica ($\text{m}^2 \text{g}^{-1}$)	35,3
Densidade superficial de massa (g m^{-2})	500
Densidade superficial de área específica ($\text{m}^2 \text{m}^{-2}$)	17700
Porosidade (%)	95
Rugosidade (μm)	30

A CCM foi operada em modo semi-contínuo e a temperatura ambiente ($25 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$). Todos os dias o ânodo era homogeneizado, 20 mL eram removidos e 20 mL de água residuária de produção de vinho eram adicionadas. O cátodo estava ligado a um reservatório de 250 mL, onde um compressor de aquário e uma pedra porosa forneciam o oxigênio com uma vazão e ar de $3,5 \text{ L min}^{-1}$. Uma bomba peristáltica recirculava solução de ácido clorídrico ($\text{pH} = 3,5$) entre o reservatório e o cátodo da CCM com vazão de $1,66 \text{ mL s}^{-1}$.

7.2.2 Água residuária e inóculo

O inóculo usado no ânodo foi coletado do reator de lodos ativados da estação municipal de tratamento de esgoto de Ciudad Real (Espanha) e concentrado por sedimentação. A concentração de sólidos suspensos totais (SST) e sólidos suspensos voláteis (SSV) foi de 15,8 e 11,1 g L^{-1} , respectivamente. Para inocular a CCM, uma solução contendo 90% do inóculo e o restante água residuária de produção de vinho foi preparada, adicionada ao ânodo da CCM, e mantida por 24 h.

Duas coletas de efluentes foram realizadas no tanque de equalização da estação de tratamento da vinícola Bodegas Crisve (Socuéllamos, Espanha), e armazenada a 4°C antes serem usadas. As características das duas águas residuárias estão apresentadas na Tabela 7.2.

Bicarbonato de sódio (NaHCO_3) foi usado como tampão e para ajustar o pH a 6,5, para proporcionais condições favoráveis ao crescimento microbiano. Fosfato de sódio dibásico ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) e sulfato de amônio ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) foram adicionados para aumentar as concentrações de nitrogênio e fósforo.

Tabela 7.2: Características da água residuária de produção de vinho usadas.

Parâmetros	Amostra 1	Amostra 2
pH	4,25	4,11
Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-2}$)	2650	2030
DQO (mg L^{-1})	19640	6850
DBO (mg L^{-1})	14500	5000
COT (mg L^{-1})	2600	1030
Nitrogênio total (mg L^{-1})	39,2	18,3
Fósforo total (mg L^{-1})	0,8	0,95
SO_4^{2-} (mg L^{-1})	Não medido	810
Cl^- (mg L^{-1})	Não medido	39,90

7.2.3 Métodos analíticos

Condutividade, pH, e oxigênio dissolvido foram medidos usando o medidor de condutividade GLP 31 Crison[®], o pH-metro GLP22 Crison[®] e o oxímetro Oxi 538 WTW[®]. A concentração de SST e de SSV foi medida gravimetricamente de acordo com o Standard Methods (APHA, 2005). A DQO e a concentração de fósforo foram medidas usando um espectrofotômetro (DR2000, HACH[®]) segundo protocolos estabelecidos pelo Standard Methods (APHA, 2005). O nitrogênio total foi monitorado usando o equipamento Multi N/C 3100 Analytik Jena.

Um multímetro (Keithley[®] 2000) foi conectado a CCM para gravar continuamente os valores de potencial da célula. As curvas de polarização foram obtidas variando a resistência externa do circuito e a tensão elétrica era medida. A densidade de potência (mW m^{-2}) e a densidade corrente (mA m^{-2}) foram normalizados por área de eletrodo do ânodo ($7,0 \text{ cm}^2$). Os parâmetros elétricos (corrente, potência e eficiência Coulombica) foram calculados da mesma forma que apresentados no item 4.2.

7.3 Resultados e Discussão

7.3.1 Remoção de matéria orgânica

Na Figura 7.2, estão apresentadas as mudanças nos valores de DQO no ânodo antes e depois do ciclo diário de reação e a taxa de consumo diário de DQO calculada pelo balanço durante a adaptação e a operação da CCM.

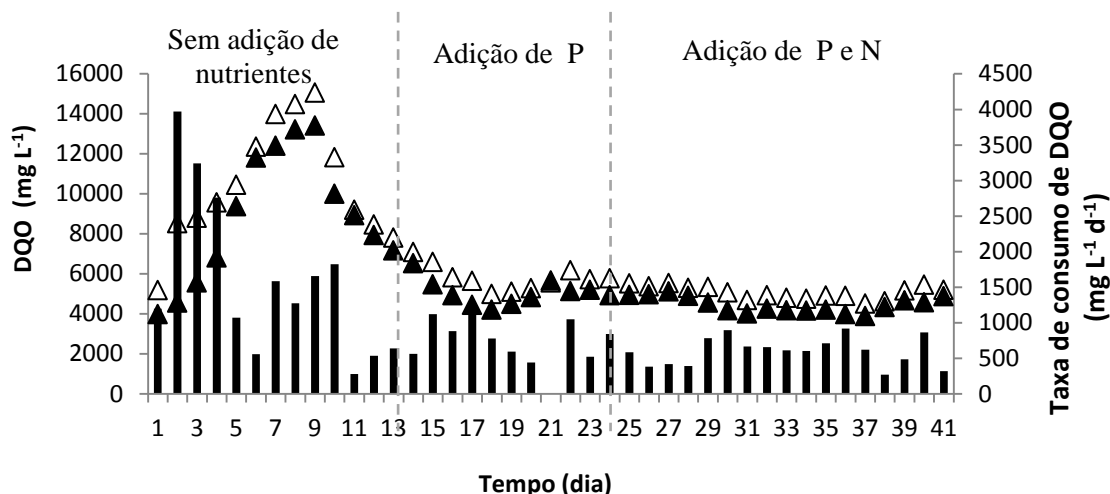


Figura 7.2: Variação temporal da concentração de DQO antes (Δ) e depois (\blacktriangle) de cada ciclo diário de alimentação e a taxa de consumo de DQO (\blacksquare) durante a operação da CCM usando como combustível água residuária de produção de vinho.

Ao longo do período experimental, pode-se observar que a DQO no ânodo aumenta até o nono dia de operação. Nesta primeira fase, a água residuária apresentava alta carga orgânica com DQO afluente de 19640 mg L^{-1} (Tabela 7.2) e foi usada para alimentação diária da CCM. O aumento da DQO pode ser compreendido como uma consequência natural da operação semi-contínua da CCM, pois a remoção alcançada pelo sistema foi muito menor que a carga orgânica de alimentação e essa diferença entre consumo e fornecimento explica a acumulação de matéria orgânica. Durante o segundo período (do 9º ao 16º dia de operação), a DQO no ânodo diminuiu porque a água residuária afluente foi mudada para o tipo 2 de menor concentração de matéria orgânica ($6850 \text{ mg DQO L}^{-1}$, Tabela 7.2). Essa mudança foi mantida até o fim do experimento (41º dia de operação). Essa alteração na composição da água residuária de produção de vinho foi devido à sazonalidade da produção de vinho (e esse fato não foi considerado no planejamento do experimento). Embora mesmo com as mudanças nas características da água residuária, não houve diferenças significativas observadas na taxa de consumo de DQO, que flutuaram randomicamente entre 500 e $4000 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$.

Após atingir o estado estacionário, cerca de 7 a 10 dias após as mudanças nas condições operacionais, a CCM removeu somente uma pequena parte da matéria orgânica presente na água residuária (cerca de $1000 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$). Essa baixa eficiência pode ser explicada considerando que a água residuária de produção de vinho contém altas concentrações de substâncias recalcitrantes que são difíceis de ser biodegradáveis, mesmo apresentando uma relação DBO:DQO de 0,76 (Tabela 7.2), próxima ao valor ótimo para o tratamento biológico que é 0,80 (PEPE SCIARRIA *et al.*, 2015). A eficiência média de remoção de DQO foi de 17%, muito menor que os observados por Cusick *et al.* (2010) e Pepe

Sciarrria *et al.* (2015) que apresentaram eficiências de remoção de DQO de 67% e 27%, respectivamente para diferentes configurações de células a combustíveis microbianas que usaram a mesma água residuária como substrato.

Vários processos de tratamento biológico diferentes de CCM baseados em sistemas aeróbios ou anaeróbios foram também propostos para a remoção de matéria orgânica da água residuária de produção de vinho, como UASB, lodos ativados, reatores de leito fixo. A eficiência de remoção de DQO alcançado nestes sistemas foi entre 70-95 % e a DQO remanescente é devido à fração solúvel não biodegradável (ANDREOTTOLA *et al.*, 2009). A eficiência de remoção de DQO nas tecnologias de tratamento estabelecidas é muito mais elevado do que o obtido na CCM, mesmo com a suplementação de nutrientes. No entanto, os mecanismos das CCM são mais complexos o que pode ajudar a explicar essa diferença na eficiência de remoção de matéria orgânica. Além disso, vale ressaltar que a eficiência de remoção de matéria orgânica é consequência das condições de operação do sistema de tratamento o que dificulta a comparação de sistemas tão diferentes.

Uma das características chaves das águas residuárias de produção de vinho é a relação desbalanceada de matéria orgânica e nutriente para processo biológico, que faz importante a busca por cosubstrato. Como as CCM são um processo biológico, seu desempenho pode ser afetado pelas pobres concentrações de nutrientes, principalmente de nitrogênio e fósforo. Para avaliar esse problema, foram usados uma solução de fosfato (cosubstrato-1) e amônio (cosubstrato-2). Os perfis temporais das concentrações de fósforo e nitrogênio antes e depois do ciclo e a taxa de consumo durante todo o período experimental estão apresentados na Figura 7.3.

Como pode ser observado na Figura 7.3A, entre o 7º e o 13º dia de operação, o fósforo total foi completamente consumido no ânodo, transformando o fósforo em um fator limitante para o desempenho da CCM. Esse consumo pode ser explicado em termos das baixas concentrações de P na água residuária ($<1 \text{ mg L}^{-1}$), que não compensou a taxa de consumo causado pela degradação da DQO. Vale a pena ressaltar que a remoção de $1000 \text{ mg DQO L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ requer pelo menos entre $10 \text{ e } 20 \text{ mg P L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ considerando que uma relação típica para assimilação de DQO e fósforo na biomassa (1-2% P, LOBATO *et al.*, 2012; RODRIGO *et al.*, 2009; RODRIGO *et al.*, 2007). Na partida da CCM, o sistema tinha uma boa relação de DQO/P, devido ao fósforo presente no inóculo utilizado mas a concentração de fósforo continuamente diminuía depois de cada ciclo e depois de 6 dias de operação da CCM, o fósforo se tornou um fator limitante para a CCM.

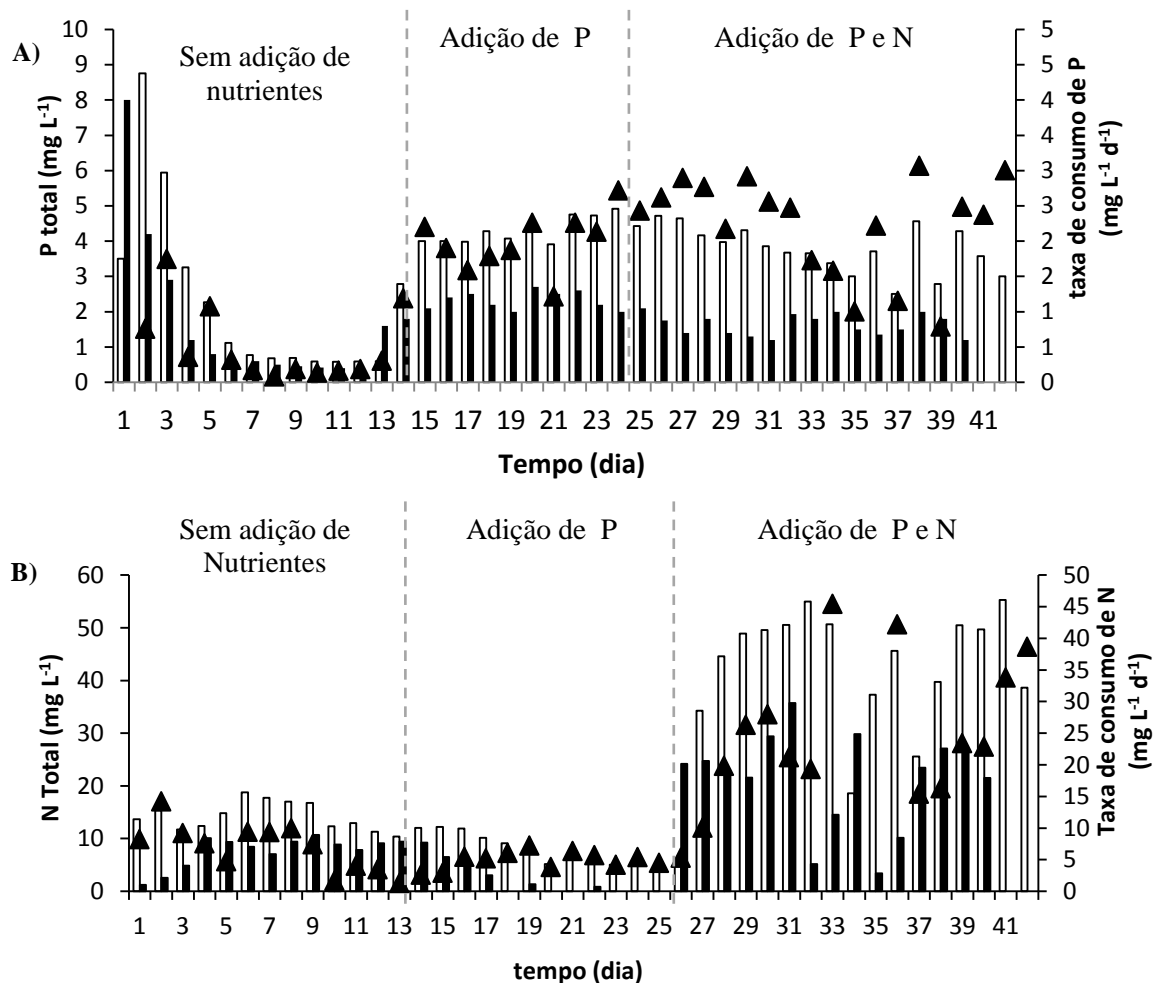


Figura 7.3: Variação temporal da concentração de fósforo (A) e nitrogênio (B) antes (□) e depois (■) o ciclo de reação e taxa de consumo do nutriente (▲) na CCM de duas câmaras alimentadas com água residuária de produção de vinho durante o período experimental.

Para resolver este problema, o cosubstrato-1 constituído de uma solução de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ foi adicionado a água residuária de produção de vinho para aumentar a concentração de fósforo para $10 \text{ mg P-PO}_4^{3-} \text{ L}^{-1}$ a partir do 14º dia até o fim da operação. Como consequência da maior disponibilidade de fósforo, a taxa de consumo de fósforo aumentou em quatro vezes (de $0,5$ para $2,1 \text{ mg P-PO}_4^{3-} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$). A partir deste momento, a concentração de fósforo no ânodo nunca cessou no final de cada ciclo, significando que não se tornou mais um fator limitante durante o experimento.

Depois, uma vez aumentada a concentração de fósforo, o nitrogênio tornou-se o novo fator limitante para o desempenho da CCM. Como pode ser observado na Figura 7.3B, a partir do 21º dia até o 26º dia de operação, esse nutriente foi esgotado depois de cada ciclo diário. O conteúdo de nitrogênio na água residuária (20 mg L^{-1}) foi provavelmente insuficiente para a remoção de DQO e foi completamente consumido neste período. Neste caso, uma relação típica para assimilação de nitrogênio é de 10% da DQO assimilada (LOBATO *et al.*, 2012; RODRIGO *et al.*, 2009; RODRIGO *et al.*, 2007). Para resolver este

problema, a concentração de nitrogênio da água residuária de produção de vinho foi suplementada com o cosubstrato 2 (sulfato de amônio) em até 100 mg NT L⁻¹ a partir do 26º dia de operação até o fim do experimento. Como pode ser observado na Figura 7.3B, com o novo cosubstrato, a taxa de consumo de nitrogênio quintuplico de 5,0 para 25 mg NT L⁻¹ d⁻¹ e a concentração de nitrogênio nunca mais foi limitante, porque sempre uma concentração considerável de nitrogênio era remanescente no final de cada ciclo diário.

Uma observação importante é que as mudanças nas relações de DQO:N e DQO:P não influenciaram significativamente a remoção de DQO que foi mantida em 1000 mg L⁻¹ d⁻¹. Isso significa que a remoção de DQO foi pouco afetada pelos nutrientes, mesmo que grandes mudanças foram observadas no consumo de ambos os nutrientes. Outra observação importante é que, com a adição dos cosubstratos, DQO, N e P não foram limitantes no processo, pois excessos eram obtidos depois de cada ciclo diário. Há dois modos diferentes de explicar essa manutenção no consumo de DQO: 1) outro nutriente (micronutriente) tornou-se um fator limitante para a CCM; e 2) o teor não biodegradável na DQO é alto e a remoção de poluentes orgânicos não é limitante pelos nutrientes, mas sim pela natureza dos compostos presentes na água residuária.

7.3.2 Caracterização eletroquímica do sistema

Diferenças na geração de energia elétrica durante o período experimental foram confirmadas pelo monitoramento da tensão elétrica da CCM e das curvas de polarização. Na Figura 7.4A, os valores médios diários na produção de eletricidade estão mostrados. Quando a água residuária de produção de vinho foi adicionada dentro do ânodo da CCM, uma tensão elétrica inicial de 6 mV foi imediatamente produzida, que pode ser explicada em termos de fatores químicos. Depois a tensão elétrica aumentou atingido um valor médio de 23,6 mV. É importante observar que a partida da CCM usando água residuária de produção de vinho como combustível foi muito rápida e depois de uma semana quase atingiu o estado estacionário. Quando o cosubstrato 1 (Na₂HPO₄·2H₂O) foi adicionado, para aumentar a concentração de fósforo na água residuária, a tensão elétrica subiu e o valor médio dobrou com relação ao observado na condição sem a suplementação de nutrientes (51,7 e 23,6 mV, respectivamente). Isso é importante, pois demonstra claramente o comportamento limitante do fósforo na geração de bioeletricidade pelos microrganismos. Embora não tenha sido observado melhora na remoção de DQO, a fração de DQO usada como combustível para

gerar energia elétrica foi aumentado, como pode ser observado pelo aumento da eficiência Coulombica na (Figura 7.4B).

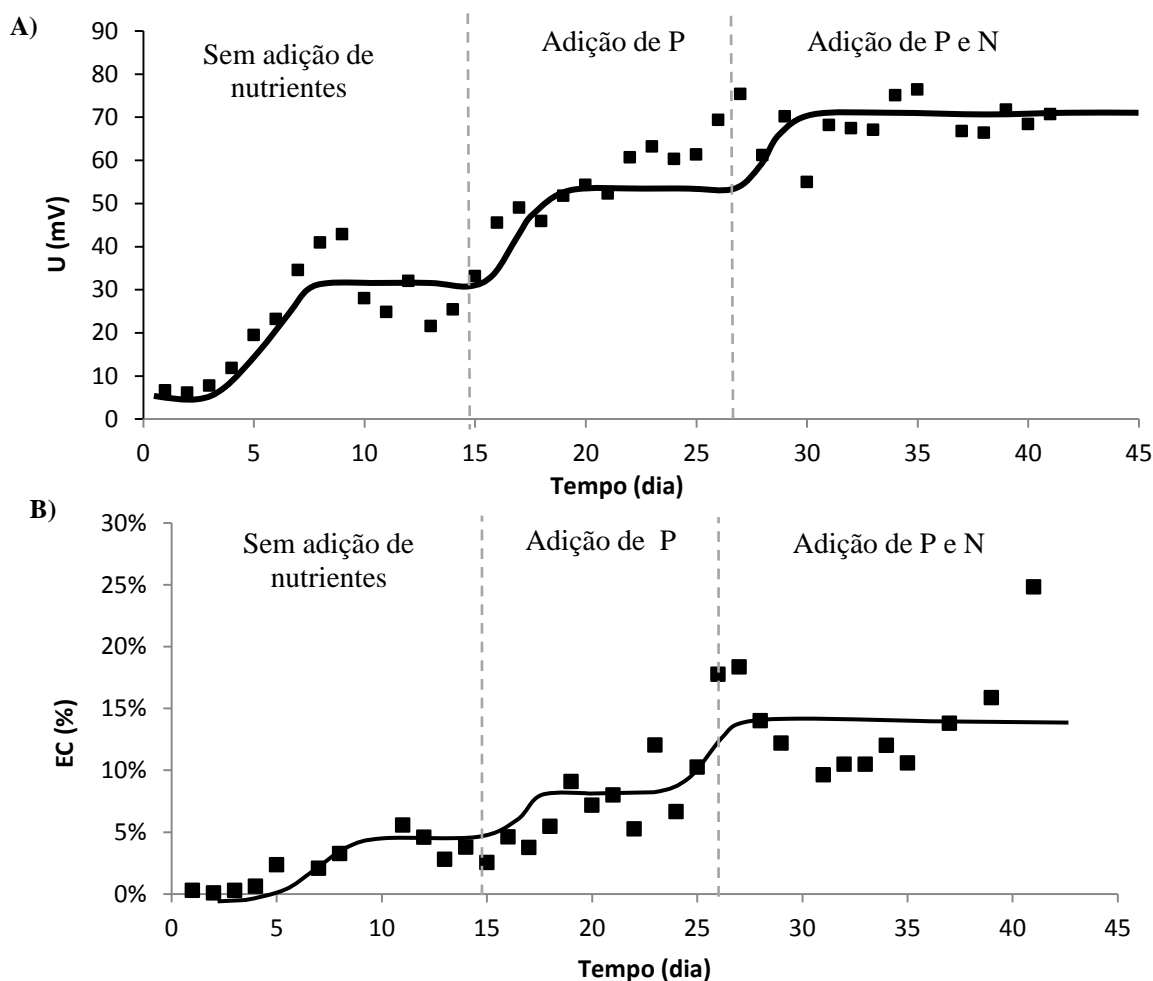


Figura 7.4: Geração de eletricidade (A, U) durante a vida da CCM alimentada com água residuária de produção de vinho: média diária da tensão elétrica (■) e a tendência (—). O perfil temporal da eficiência Coulombica (B, EC) obtida pela CCM alimentada com água residuária de produção de vinho durante o período experimental: valores diários (■) e tendência (—).

A adição extra de nitrogênio a partir do 26º dia de operação mostrou significativa influência na tensão elétrica da CCM, aumentando o valor médio em cerca de 30% (67,8 mV). Vale a pena mencionar que a tensão elétrica foi mais estável quando nitrogênio e fósforo foram adicionados na água residuária de produção de vinho, devido a melhores condições nutricionais da água residuária. De novo, ressalta-se que, embora não tenham sido observadas mudanças significativas na taxa de consumo de DQO, a atividade dos microrganismos redutores do eletrodo do ânodo melhorou muito e maior porcentagem de DQO foi processada por estes microrganismos. Essa prevalência pode ser claramente observada na Figura 7.4B, onde estão apresentadas as mudanças da eficiência Coulombica calculada usando a energia gerada e a DQO consumida pela CCM.

Além disso, a adição dos co-substratos 1 e 2 aumentaram a condutividade da solução do ânodo devido a maior disponibilidade de íons facilitando os processos de transferência de elétrons e de carga no interior da célula a combustível e, conseqüentemente, a geração de energia

Quando a fonte extra de fósforo foi adicionada, a eficiência Coulombica triplicou de 2,1% para 6,7%, mostrando que a adição de fósforo favoreceu os microrganismos que realizam a respiração de redução do ânodo. A adição da fonte extra de nitrogênio a partir do 26° dia de operação mostrou uma significativa influência na eficiência Coulombica dobrando o valor médio de 6,7% para 14,7%. Esses valores de eficiência Coulombica podem ser considerados elevados, em particular se consideramos que a máxima eficiência esperada (para culturas puras de microrganismo bioeletrogênicos) não pode exceder 40% (GONZALEZ DEL CAMPO *et al.*, 2013; LOBATO *et al.*, 2012; RODRIGO *et al.*, 2009), pois esse é o valor típico de consumo catódico da DQO (os 60% restantes são usados nas reações biológicas assimilativas). Essa observação também sugeriu que os outros microrganismos competidores, como as arqueias metanogênicas e as bactérias sulfetogênicas estão exercendo um papel importante e que, para esses, as relações DQO/N e DQO/P não são tão importantes quanto para os microrganismos bioeletrogênicos. Neste ponto, é interessante observar que as eficiências Coulombicas reportadas foram similares àsquelas de outros estudos realizados por Cusick *et al.* (2010) e Pepe Sciarria *et al.* (2015) que usaram uma CCM de câmara única com cátodo ao ar (18% e 15%, respectivamente), para as quais as perdas ôhmicas são menores.

Neste ponto é interessante observar a resposta transiente da CCM que foi operada em modo semi-contínuo, alimentando o compartimento anódico com água residuária de produção de vinho todos os dias. Na Figura 7.5, os perfis diários da tensão elétrica em diferentes condições são mostrados. Quando a CCM foi alimentada ao redor das 09:00 e 10:00 horas, a tensão elétrica instantaneamente aumentava mas para depois cair. Esse perfil instável de tensão elétrica foi observado por Lee *et al.* (2014), que creditaram o aumento à redução de sulfato e à oxidação do sulfeto.

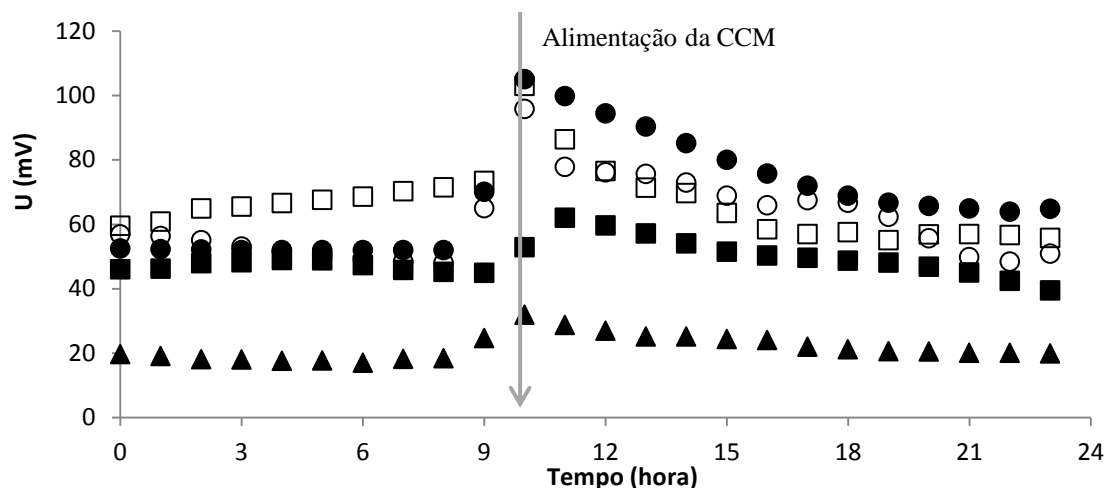


Figura 7.5: Perfil diário da tensão elétrica em diferentes dias e condições: sem suplementação de nutrientes no 12º dia de operação (▲); adicionado 10 mg P-PO₄³⁻ L⁻¹ na água residuária de produção de vinho no 16º dia de operação (■) e adicionando 10 mg P-PO₄³⁻ L⁻¹ e 100 mg NT L⁻¹ no 27º, 30º e 37º dia de operação (○, ● e □, respectivamente).

O sulfato presente na água residuária de produção de vinho (Tabela 7.2) foi usado comoceptor final de elétrons convertendo-se a sulfeto que ativou a superfície do ânodo eletroquimicamente. Quando a nova alimentação era adicionada, a perturbação no reator causou a oxidação do sulfeto a enxofre elementar e a sulfato, aumentando a geração de elétrons. Portanto, esse processo pode ter aumentado a geração de eletricidade na CCM neste momento e as espécies de enxofre atuaram como mediadores de elétrons. Outra causa possível para essa subida foi a adição de ácido clorídrico no cátodo para controlar o pH em 3,5 que aumentava a concentração de prótons reagindo com oxigênio e elétrons gerando mais energia. Com o passar do tempo, a concentração de prótons no cátodo diminuiu e, consequentemente, a tensão elétrica gerada também e o pH aumentou.

As curvas de polarização foram gravadas durante o período experimental (Figura 7.6) e elas mostraram perfis interessantes. Quando nutrientes não foram adicionados à água residuária de produção de vinho, nas curvas de polarização do 5º e do 13º dia de operação, a CCM apresentou densidade de potência máxima de 105 mW m⁻² em 830 Ω (248 mV). Adicionando 10 mg P-PO₄³⁻ L⁻¹ na água residuária, a densidade de potência máxima triplicou em relação a obtida sem a adição de nutrientes, atingindo um valor de 353 mW m⁻² (287 mV). A adição de nitrogênio no 26º dia de operação mostrou efeito positivo na densidade de potência máxima, aumentando até 465 mW m⁻² (269 mV) em 220 Ω.

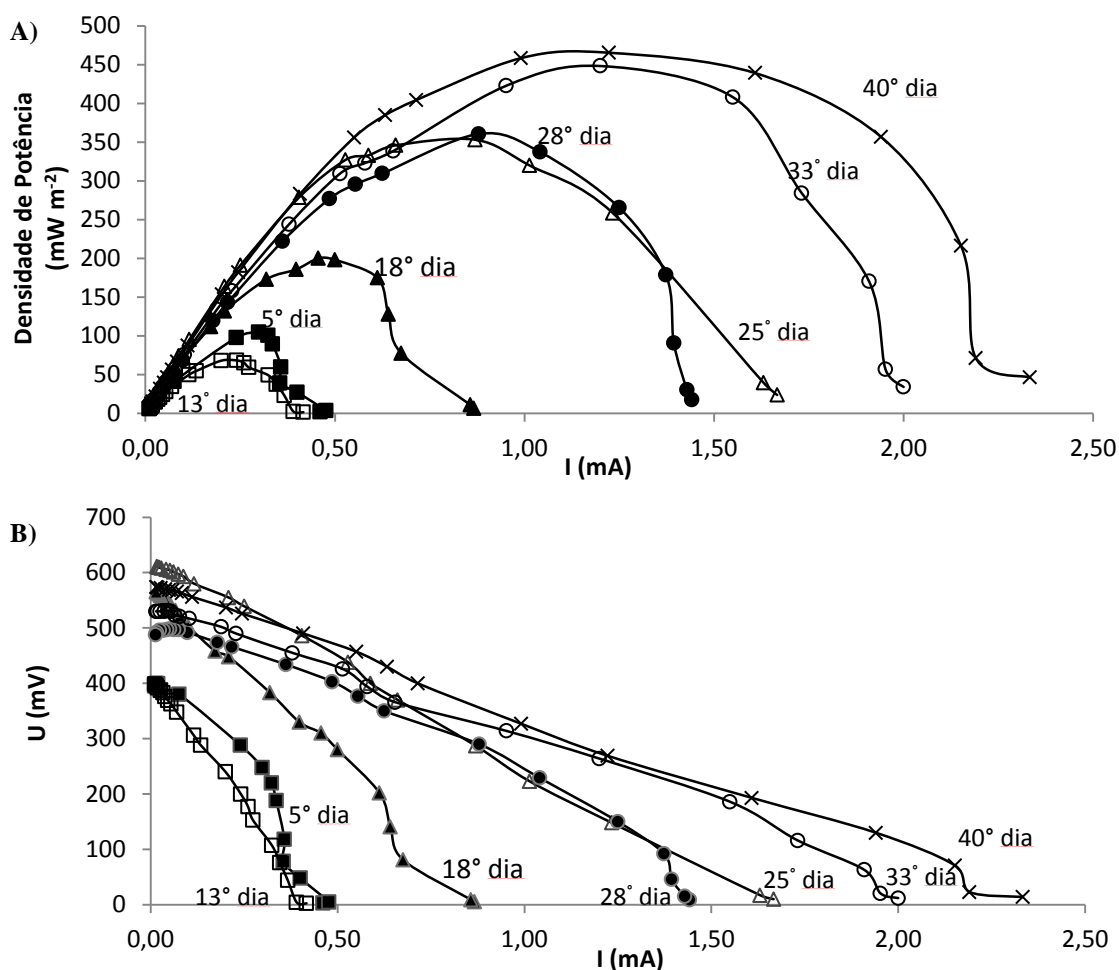


Figura 7.6: Curvas de polarização (A e B) obtidas na CCM alimentada com água residuária de produção de vinho. As curvas do 5^o (■) e 13^o (□) dia foram realizadas sem a suplementação de nutrientes na água residuária de produção de vinho, as do 18^o (▲) e 25^o (△) dia de operação foram feitas com a adição de 10 mg P-PO₄³⁻ L⁻¹ e as do dia 28^o, 33^o e 40^o dia (●, ○, ×, respectivamente) foram realizadas adicionando 10 mg P-PO₄³⁻ L⁻¹ e 100 mg NT L⁻¹.

É interessante observar que as principais diferenças nas curvas de polarização estão nas zonas onde a redução ôhmica (primeira zona com declividade constante) e a transferência de massa (segunda zona da curva) controlam o desempenho da CCM. A maior declividade nas curvas de polarização observadas sem a suplementação de nutrientes na água residuária de produção de vinho pode estar relacionada ao efeito positivo da condutividade iônica quando os nutrientes foram adicionados. A adição de nitrogênio e fósforo aumentou a condutividade da água residuária de produção de vinho diminuindo a declividade da primeira zona das curvas de polarização e, conseqüentemente, as perdas ôhmicas, aumentando a geração de energia elétrica (TORRES *et al.*, 2008 e HUANG & LOGAN, 2008b). Na Figura 7.7, as mudanças na condutividade durante o período experimental estão apresentadas. Como pode ser observado, há um aumento inicial que pode ser explicado pela alta condutividade da água residuária de produção de vinho comparada ao inóculo usado. A adição de fósforo e

nitrogênio claramente resultou em um pequeno aumento da condutividade que ajuda a explicar a menor declividade da zona de redução ôhmicas das curvas de polarização com o passar do tempo.

Além disso, um efeito adicional da suplementação de nutrientes pode ser observado na zona controlada pela transferência de massa (Figura 7.6B), que claramente tornou-se menos limitante com a adição de nutrientes (menos abrupta as mudanças na tensão elétrica e intensidade de corrente elétrica), indicando a necessidade da coexistência dos microrganismos, substratos e nutrientes para prevenir que a transferência de massa seja um fator limitante para a geração de energia elétrica direta pela CCM. Assim, a adição destes nutrientes incrementou a condutividade da solução e melhorou a geração de elétrons pelos microrganismos e a transferência de elétrons para o eletrodo, diminuindo a resistência ôhmica e a resistência à transferência de massa (RODRIGO *et al.*, 2009).

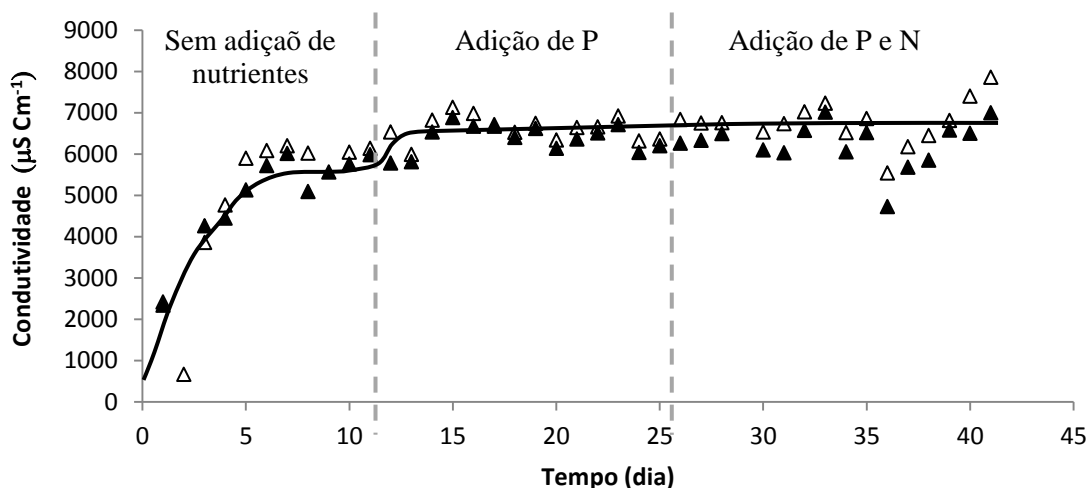


Figura 7.7: Perfil temporal da condutividade monitorada no ânodo da CCM alimentada com água residuária de produção de vinho durante o período experimental: antes (▲) e depois (△) de cada ciclo diário e tendência (—).

A água residuária de produção de vinho com relação de DQO:N:P de 700:10:1 tem elevado potencial para gerar energia elétrica direta em CCM comparado com outros efluentes agroindustriais tratados pela mesma tecnologia. A água residuária de produção de vinho suplementada com nitrogênio e fósforo gerou densidade de potência máxima de 465 mW m⁻² devido à alta DQO e a alta condutividade presente neste tipo de água residuária. No entanto deve-se ter em conta que é difícil comparar a energia gerada por diferentes CCM visto que este parâmetro é consequência das condições operacionais utilizadas em cada estudo, como, temperatura, inóculo, eletrodo, configuração da CCM como pode ser observado na Tabela 7.3. De qualquer modo, os valores obtidos neste trabalho refletem o comportamento promissor deste tipo de combustível em CCM.

Tabela 7.3: Comparação de desempenho de diferentes CCM tratando resíduos agroindustriais.

Substrato	Densidade de potência (mW m ⁻²)	Eficiência Coulombica (%)	DQO afluyente (mg L ⁻¹)	Tipo de CCM (eletrodos)	Ref.
Água residuária de produção de vinho	465	14,7	6850	Duas câmara (feltro de carbono)	Este trabalho
Água residuária de produção de vinho	263 - 111	9-15	10100 - 6400	Câmara única com cátodo ao ar (fibras de grafite)	(Pepe Sciarria <i>et al.</i> , 2015)
Água residuária de produção de vinho	278	18	2200	Câmara única (ânodo: escova de fibra de carbono; cátodo de tecido de carbono recoberto com platina)	(Cusick <i>et al.</i> , 2010)
Vinhaça de palma	1800	20	16000	Câmara única (Placas de grafite)	(Kaewkannetra <i>et al.</i> , 2011)
Água residuária de processamento de amido	239	8	4852	Câmara única com cátodo ao ar (ânodo: papel de carbono e cátodo: papel de carbono recoberto com platina)	(Lu <i>et al.</i> , 2009)
Água residuária de suinocultura	45 261	- 8	8320	Duas câmaras Câmara única (Papel de carbono)	(Min & Logan, 2004)
Esgoto sanitário com água residuária de produção de azeite de oliva	124	29	4300	Câmara única com cátodo ao ar (ânodo: escova de fibra de carbono; cátodo de tecido de carbono recoberto com platina)	(Sciarria <i>et al.</i> , 2013)

7.4 Considerações Finais

A partir deste trabalho, pode-se concluir que a CCM de duas câmaras foi capaz de gerar energia elétrica de maneira estável usando água residuária de produção de vinho como combustível e que o desbalanceamento entre as concentrações de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo no tratamento de águas residuárias da produção de vinho é um dos principais entraves para a aplicação dos tratamentos biológicos neste tipo de água residuária. Esses resultados confirmaram a sub-hipótese 5 deste trabalho.

A tecnologia da CCM não foi eficiente na remoção de matéria orgânica comparada com outros processos biológicos de tratamento de águas residuárias de produção de vinho, porque somente uma pequena parte da matéria orgânica (menos de 20%) foi eliminada mesmo com a adição de nitrogênio e fósforo. A presença de compostos recalcitrantes de difícil biodegradação na água residuária de produção de vinho pode ser uma explicação para a baixa remoção apresentada pelas células a combustível.

O aumento na concentração de nitrogênio e fósforo não influenciou a remoção de DQO, mantendo a taxa de consumo diário em torno de $1000 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Porém a adição de nitrogênio e fósforo teve influência importante na geração de energia elétrica direta pela CCM, indicando que o desempenho dos microrganismos bioeletrogênicos é limitado por estes nutrientes de maneira mais significativa que a competição com os demais microrganismos.

A suplementação destes macronutrientes, até concentrações em que ambas as espécies sobrassem em concentrações significativas após cada ciclo diário de operação da CCM, melhorou a geração de energia elétrica aumentando a eficiência Coulombica de 2% para quase 15% e a densidade de potência de 105 para 465 mW m^{-2} .

A partida da CCM alimentada com água residuária de produção de vinho e operada em modo semi-contínuo foi muito rápida. O estado estacionário na geração de energia foi atingido em menos de uma semana, com rápidas respostas quando as mudanças na relação carbono, nitrogênio e fósforo foram impostas ao sistema.

8 INFLUÊNCIA DO TEMPO DE RETENÇÃO CELULAR NA PRODUÇÃO DE ENERGIA ELÉTRICA EM CÉLULA A COMBUSTÍVEL MICROBIANA DE DUAS CÂMARAS TRATANDO ÁGUA RESIDUÁRIA DE PRODUÇÃO DE VINHO

8.1 Introdução

O tempo de retenção celular (TRC) ou a idade do lodo é um parâmetro imprescindível para o projeto e a operação do processo biológico de tratamento de águas residuárias (RODRIGO *et al.*, 1996) e, conseqüentemente, deste modo, é esperado que o TRC tivesse uma influência crítica no desempenho de uma CCM. O TRC representa o tempo médio que os microrganismos permanecem dentro do reator biológico, e está relacionado com a população microbiana e a distribuição das espécies nesta comunidade, sendo um modo efetivo para selecionar a comunidade microbiana. Quanto mais baixo TRC, maior a velocidade de crescimento dos microrganismos para permanecer no reator biológico e, conseqüentemente, evitar a seu descarte do sistema.

Embora a escolha de um TRC possa levar a séria conseqüência relacionada ao desempenho do processo biológico de tratamento águas residuárias, suas influências sobre o desempenho de uma CCM não foram estudadas ainda. Levando em consideração essa lacuna, esta etapa do trabalho teve como foco o efeito de diferentes TRC no desempenho de CCM de dois compartimentos alimentada com água residuária de produção de vinho, tendo especial atenção no estudo da remoção de DQO e na recuperação de energia.

8.2 Material e Métodos

O protocolo experimental utilizado é semelhante ao descrito no item 7, no entanto o sistema de operação e a composição da água residuária de produção de vinho foi um pouco diferente como será descrito mais detalhadamente no item 8.2.1 e 8.2.2, respectivamente.

8.2.1 Célula a combustível microbiana (CCM) e operação

O aparato experimental usado neste trabalho está apresentado na Figura 8.1. Duas CCM construídas em tubos de acrílico detalhadas no item 7.2.1 e usando feltro de carbono

foram operadas em modo semi-contínuo e a temperatura ambiente ($25 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$). Para regular o tempo de retenção celular (TRC), todos os dias, um volume do meio líquido do ânodo (anólito bem homogeneizado) era removido e a mesma quantidade era adicionada de água residuária de produção de vinho. O volume retirado em cada teste foi de 10, 20, 30, 40, 50 e 60 mL que resultou nos seguintes TRC de 7, 3,5, 2,3, 1,8 1,4 e 1,2 dias, respectivamente.

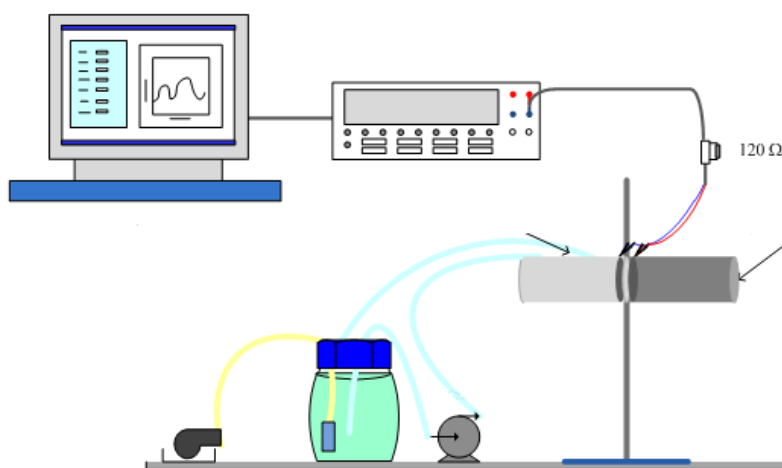


Figura 8.1: Instalação experimental com CCM e o sistema de aquisição de dados *online* composto de um multímetro e de um computador.

O compartimento catódico estava ligado a um reservatório de 250 mL, onde um compressor de aquário e uma pedra porosa forneciam o oxigênio. Uma bomba peristáltica recirculava uma solução de ácido clorídrico ($\text{pH}=3,5$) entre o reservatório e o cátodo da CCM. A vazão usada era de $1,66 \text{ mL s}^{-1}$.

Uma observação importante para ser considerado na discussão dos resultados é que a influência do TRC no desempenho da CCM foi estudada mudando esse parâmetro em duas CCM diferentes. A CCM1 foi operada com TRC de 7 d durante 45 dias de operação, depois o TRC foi mudado para 2,3 d por 35 dias e finalmente foi alterado para 1,4 d durante os últimos 10 dias. Complementarmente, a CCM2 foi operada com TRC de 3,5 d nos primeiros 41 dias de operação e depois o TRC passou para 1,8 d durante 35 dias e, nos últimos 10 dias foi operada com TRC de 1,2 d.

8.2.2 *Água residuária e inóculo*

O inóculo usado no ânodo foi coletado do reator de lodos ativados da estação municipal de tratamento de esgoto de Ciudad Real (Espanha) e concentrado por sedimentação. A concentração de sólidos suspensos totais (SST) e sólidos suspensos voláteis

(SSV) foi de 15,8 e 11,1 g L⁻¹, respectivamente. Para inocular a CCM, uma solução contendo 90% do inóculo e o restante de água residuária de produção de vinho foi preparada e, depois, adicionada ao ânodo da CCM e mantida por 24 horas em contato. Após este período iniciou-se a operação da CCM em modo semi contínuo.

A água residuária de produção de vinho foi coletada no tanque de equalização da estação de tratamento da vinícola Bodegas Crisve (Socuéllamos, Espanha), e armazenada a 4°C antes de ser usada. A característica da água residuária de produção de vinho utilizada está apresentada na Tabela 8.1.

Tabela 8.1: Características da água residuária de produção de vinho usada no experimento para avaliação da influência do tempo de retenção celular.

Parâmetros	Valores
pH	4,11
Condutividade (µS cm ⁻²)	2030
DQO (mg L ⁻¹)	6850
DBO (mg L ⁻¹)	5000
COT (mg L ⁻¹)	1030
Nitrogenio total (mg L ⁻¹)	18,3
Fósforo total (mg L ⁻¹)	0,95
SO ₄ ²⁻ (mg L ⁻¹)	810
Cl ⁻ (mg L ⁻¹)	39,90

Bicarbonato de sódio (NaHCO₃) foi usado como tampão e para ajustar o pH a 6,5. Fosfato de sódio dibásico (Na₂HPO₄·2H₂O) e sulfato de amônio ((NH₄)₂SO₄) foram adicionados para aumentar as concentrações de nitrogênio e fósforo para 10 mg P-PO₄³⁻ L⁻¹ e 100 mg N-NT L⁻¹ de acordo com estudo sobre a disponibilidade de nutriente neste tipo de água residuária apresentado no item 7 (Penteado *et al.*, 2015).

8.3 Resultados e Discussão

8.3.1 Remoção de matéria orgânica

Os valores médios de DQO, nitrogênio total (NT) e fósforo total (PT) no ânodo antes e depois do ciclo de reação para cada tempo de retenção celular (TRC) estudado estão apresentados na Figura 8.2. Os valores mostrados na Figura 8.2 foram calculados depois de

estabilizado a DQO depois de alguns dias de operação (entre 7 e 10 dias após a mudança do TRC) e o valor médio foi calculado para evitar os efeitos de flutuações.

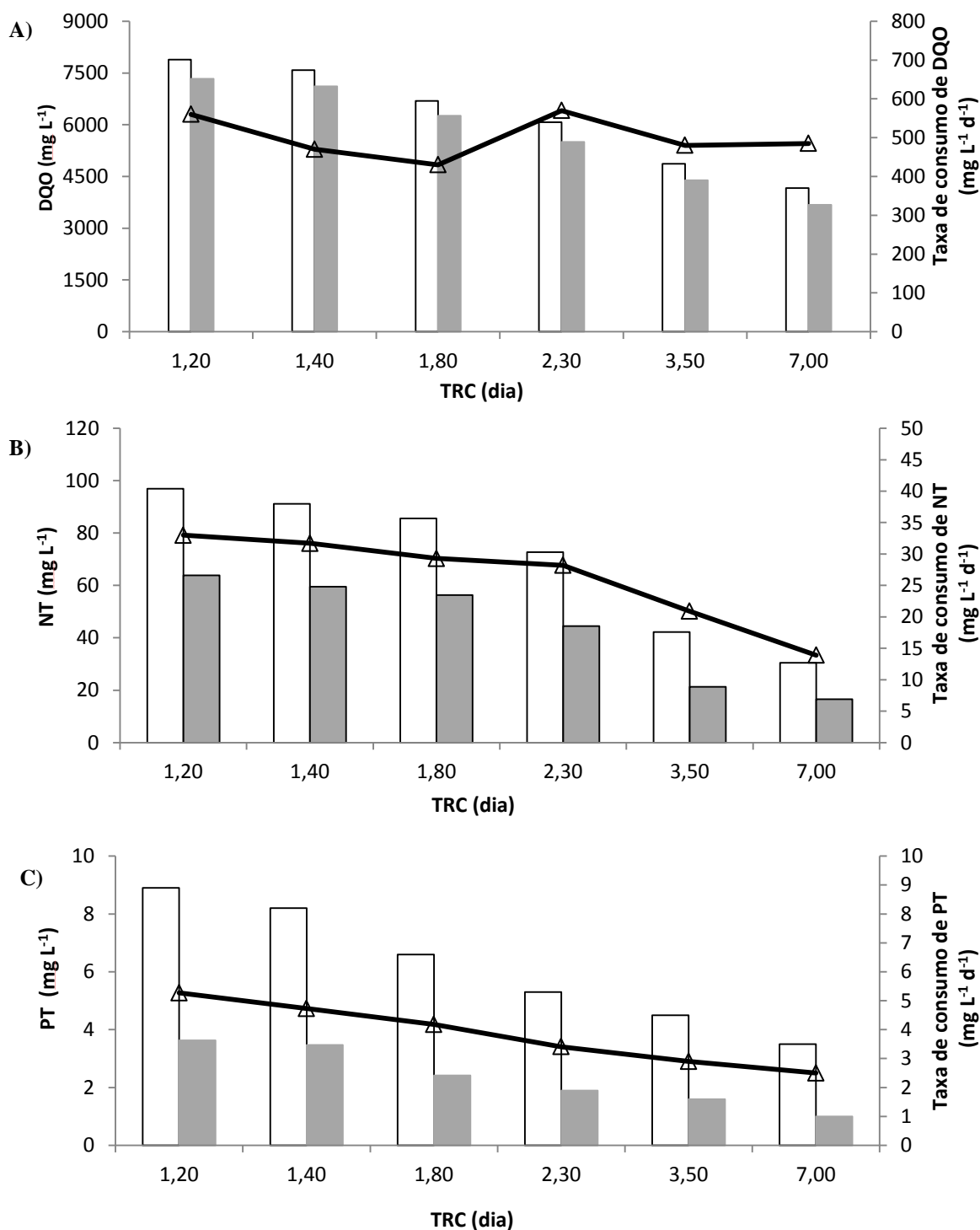


Figura 8.2: Valores médios de DQO (A), nitrogênio total (NT, B) e fósforo total (PT, C) antes (□) e depois (■) do ciclo e a taxa de consumo em diferentes tempos de retenção celulares estudados (△) nas CCM alimentadas com água residuária de produção de vinho.

É importante levar em conta que as altas concentrações de matéria orgânica (como DQO), NT e PT antes do ciclo para os baixos TRC testados não podem ser considerados uma

consequência do TRC, mas sim do procedimento operacional planejado, como pode ser observado na Figura 8.3 em relação à DQO. Quanto menor o TRC, maior a quantidade de água residuária de produção de vinho bruta adicionada no sistema, e, portanto, o efeito da diluição nas concentrações antes do ciclo de matéria orgânica e nutrientes na solução do ânodo causado pela troca com a água residuária de produção de vinho é menor. Mesmo usando duas CCM em paralelo, uma boa reprodutibilidade dos resultados foi obtida sendo uma das provas adicionais da robustez da tecnologia de CCM e será uma das conclusões obtidas neste trabalho.

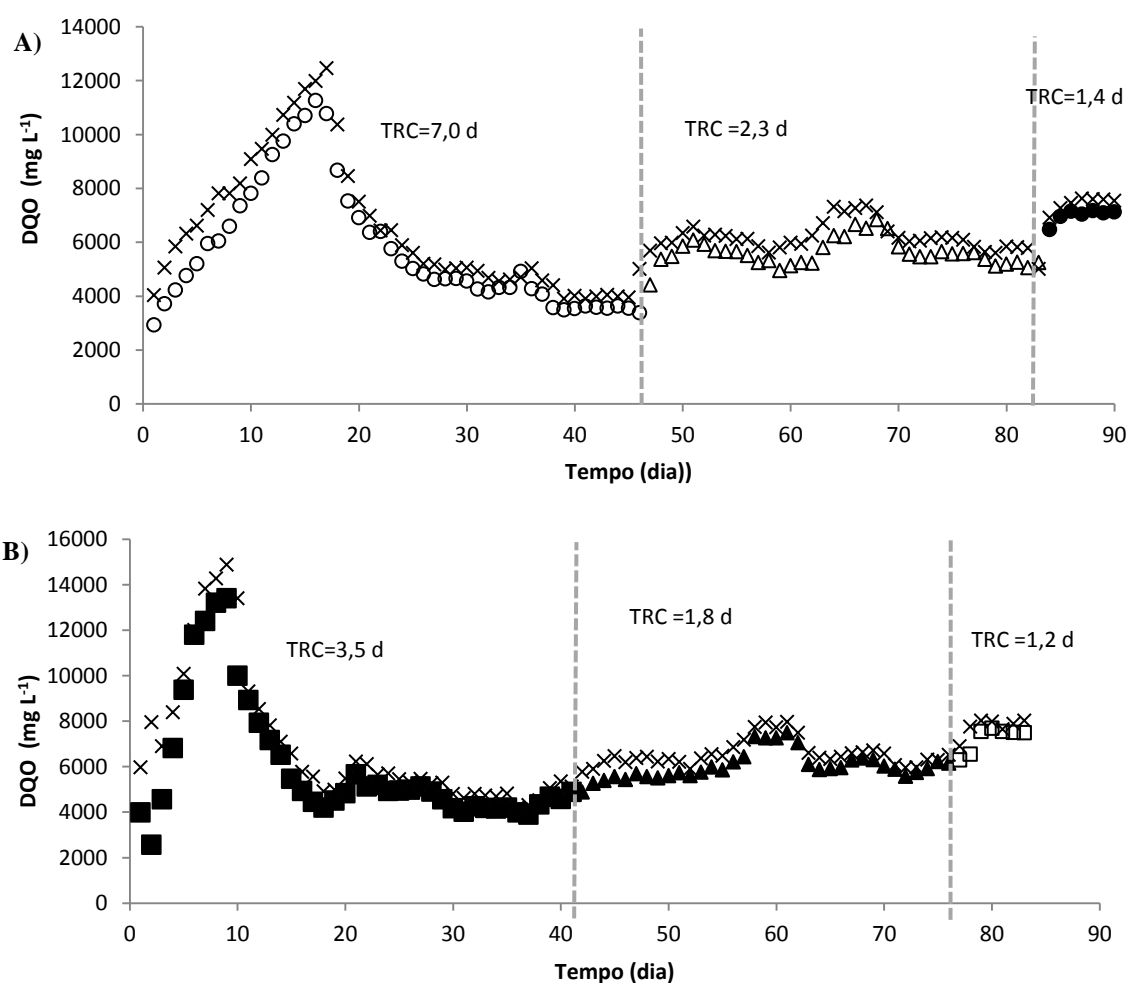


Figura 8.3: Perfil temporal de DQO antes (×) e depois de cada ciclo diário na CCM 1 (A) e na CCM2 (B) em todas as condições estudadas alimentadas com água residuária de produção de vinho: na CCM 1 com TRC de 1,4 d (●); com TRC de 2,3 d (△) e com TRC de 7,0 d (○) e na CCM 2 com TRC de 1,2 d (□), com TRC de 1,8 d (▲) e com TRC de 3,5 d (■).

Uma vez esclarecidos estes importantes pontos, na comparação da remoção de DQO, pode ser observado que somente uma pequena fração da matéria orgânica presente na água residuária de produção de vinho alimentada foi removida durante a operação da CCM. Além

disso, essa fração não parece ser dependente do TRC, e é cerca de $600 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ independentemente do TRC (Figura 8.2A). Essa observação pode ser explicada em termos da fração de substâncias recalcitrantes contidas na água residuária de produção de vinho (PEPE SCIARRIA *et al.*, 2015). A eficiência média de remoção de DQO foi de 10% somente, sendo este valor inferior aos observados por outros autores (CUSICK *et al.*, 2010; PEPE SCIARRIA *et al.*, 2015) que reportam eficiência de 67% e 27%, para o mesmo tipo de água residuária, porém em outras configurações de CCM. De qualquer maneira, a grande variedade de águas residuárias de produção de vinho resultantes dos diferentes processos envolvidos na produção de vinho e a sazonalidade das características destas águas residuárias podem ajudar a justificar essas divergências na remoção de matéria orgânica. Mesmo com essa pequena remoção de DQO, a matéria orgânica não foi um fator limitante para o desempenho da CCM.

Com relação ao consumo dos outros macronutrientes, nitrogênio e fósforo, pode se observar uma relação entre as taxas de consumo de NT e PT e os diferentes TRC testados (Figuras 8.2B e 8.2C, respectivamente). Quanto menor foi o TRC, maior foi o consumo dos nutrientes sugerindo uma maior atividade da população microbiana. Além disso, mesmo para baixos TRC, outra importante observação é que as concentrações de nitrogênio e fósforo não foram limitantes para operação CCM, pois a concentração no final de cada ciclo diário não era desprezível.

A concentração de microrganismo foi quantificada como sólidos suspensos voláteis (SSV) e a resultante carga orgânica volumétrica específica (COVE) estão mostrados na Figura 8.4. Como esperado, a concentração de SSV aumentou com o aumento do TRC. Longos TRC permitiram que mais espécies de microrganismos se reproduzissem efetivamente, aumentando a concentração de SSV. Neste ponto, é importante ter em mente que os microrganismos com velocidade de crescimento menor que o TRC são eliminados do sistema biológico; pois, se a taxa de remoção (por purga) é maior que a velocidade de crescimento dos microrganismos, eles podem ser lavados para fora da CCM quando operada em baixos TRC. Desta maneira, o controle do TRC é um importante método para seleção e distribuição dos diferentes tipos de microrganismos. Quando a CCM foi operada com TRC de 7,0 d, a SSV foi de $0,643 \text{ g SSV L}^{-1}$. A partir deste valor, a diminuição da concentração de SSV é quase linear e para o menor TRC testado (1,2 d) a concentração foi até 72% menor ($0,18 \text{ g SSV L}^{-1}$). É interessante observar que COVE aumenta reduzindo o TRC, indicando que mais matéria orgânica está disponível para os microrganismos, como uma direta consequência do declínio da concentração dos microrganismos (medido em mg SSV). Como explicado anteriormente, essa

maior disponibilidade não refletiu na taxa de consumo DQO, mas influenciou nas taxas de consumo de NT e PT.

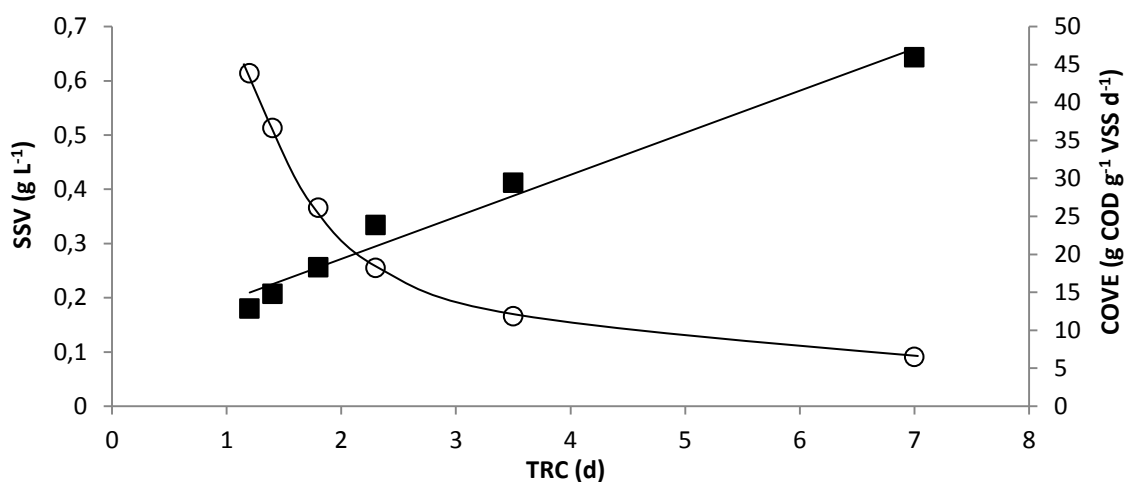


Figura 8.4: Relação entre a concentração de SSV (■) e a COVE (○) em diferentes TRC estudados nas CCM alimentadas com águas residuárias de produção de vinho.

8.3.2 Caracterização eletroquímica do sistema

Uma vez esclarecidos o papel do TRC na degradação da água residuária de produção de vinho, é importante focar-se nos aspectos de geração de energia no desempenho da CCM. Para acessar se o TRC influencia na geração elétrica, a tensão da célula e as curvas de polarização foram monitoradas.

A variação temporal da tensão elétrica em diferentes TRC na CCM operada em modo semi-contínuo é mostrado na Figura 8.5. Foi observada uma clara influência do TRC na geração de energia elétrica direta e a diferença de uma ordem de magnitude foi observada quando comparados os dois valores extremos testados neste trabalho. O maior valor médio de tensão elétrica foi obtido na CCM operado com 1,2 d de TRC (178 mV) e o menor foi alcançado no reator operado com 7,0 d de TRC (18 mV). A tensão elétrica aumentou com a diminuição do TRC de 7,0 para 1,2 d (Figura 8.5A), o que indica que baixos TRC favorecem a geração de energia pela CCM, porque os microrganismos não-exoeletrogênicos foram eliminados da CCM e mais matéria orgânica pode ser usada pelas bactérias exoeletrogênicas.

O perfil diário de tensão elétrica, como pode ser observado na Figura 8.5B, mostrou uma instabilidade, a tensão elétrica aumentava instantaneamente, mas depois ela diminuía. Esse aumento pode ter sido causado pela adição de ácido clorídrico no cátodo para controlar o pH em 3,5, que subia a concentração de prótons que reagiam com o oxigênio e os elétrons, gerando mais energia. Com o passar do tempo, a concentração de prótons no cátodo diminuía e, conseqüentemente, a tensão elétrica se reduzia e o pH do cátodo aumentava.

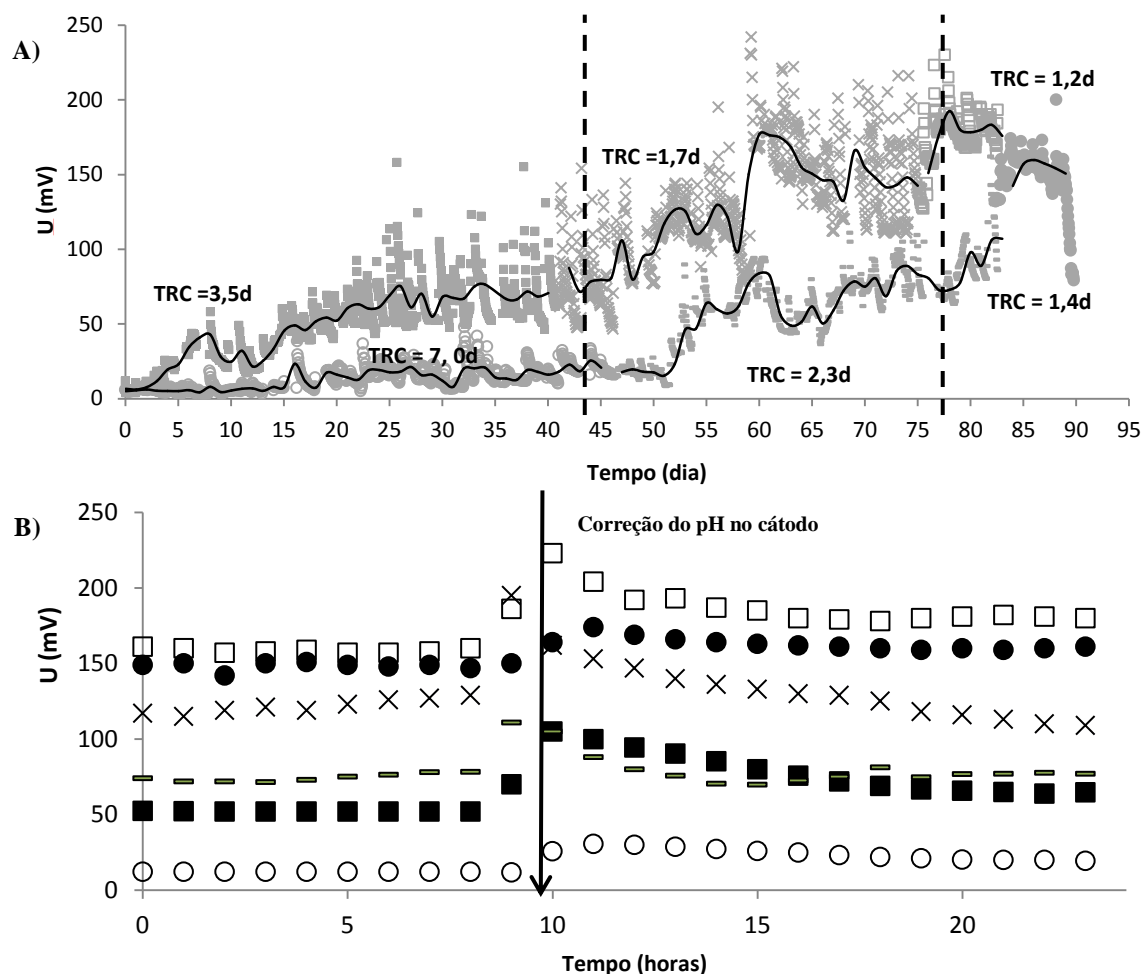


Figura 8.5: Geração de eletricidade durante a vida da CCM alimentada com água residuária de produção de vinho em diferentes TRC: 1,2 (□), 1,4(●), 1,8(×), 2,3 (-), 3,5(■), 7,0 (○) d e a tendência (—) em cada caso estudado (A). O perfil diário da tensão elétrica gerada (U) em diferentes dias e condições (B): com TRC de SRT 1,2 d no 83º dia (□), com TRC de 1,4 d no 86º dia (●), com TRC de 1,8 d no 63º dia (×), com TRC de 2,3 d no 68º dia (-), com TRC de 3,5 d no 30º dia e com TRC de 7,0 no 31º dia de operação.

As curvas de polarização foram feitas para cada TRC estudado e mostraram o mesmo comportamento que o obtido com a tensão elétrica de célula a combustível, como pode ser observado na Figura 8.6. Quando a célula foi operada com TRC de 7,0 d, a CCM atingiu-se a densidade de potência máxima de 58 mW m^{-2} (95 mV). Diminuindo o TRC para 1,2 d, houve um significativo aumento da densidade de potência máxima, com valor 15 vezes maior que a obtida com TRC de 7,0 d (891 mW m^{-2} e 275 mV). É interessante observar que a declividade das curvas de polarização (Figura 8.6B) diminuiu com a redução do TRC de 7,0 para 1,2 d, pois as perdas ôhmicas foram minimizadas devido ao aumento da condutividade da solução do ânodo (Tabela 8.2). Isso se deu como consequência do modo de operação da CCM (em baixos TRC um maior volume de água residuária de produção de vinho bruta foi adicionada) e da seleção de microrganismos pelo TRC.

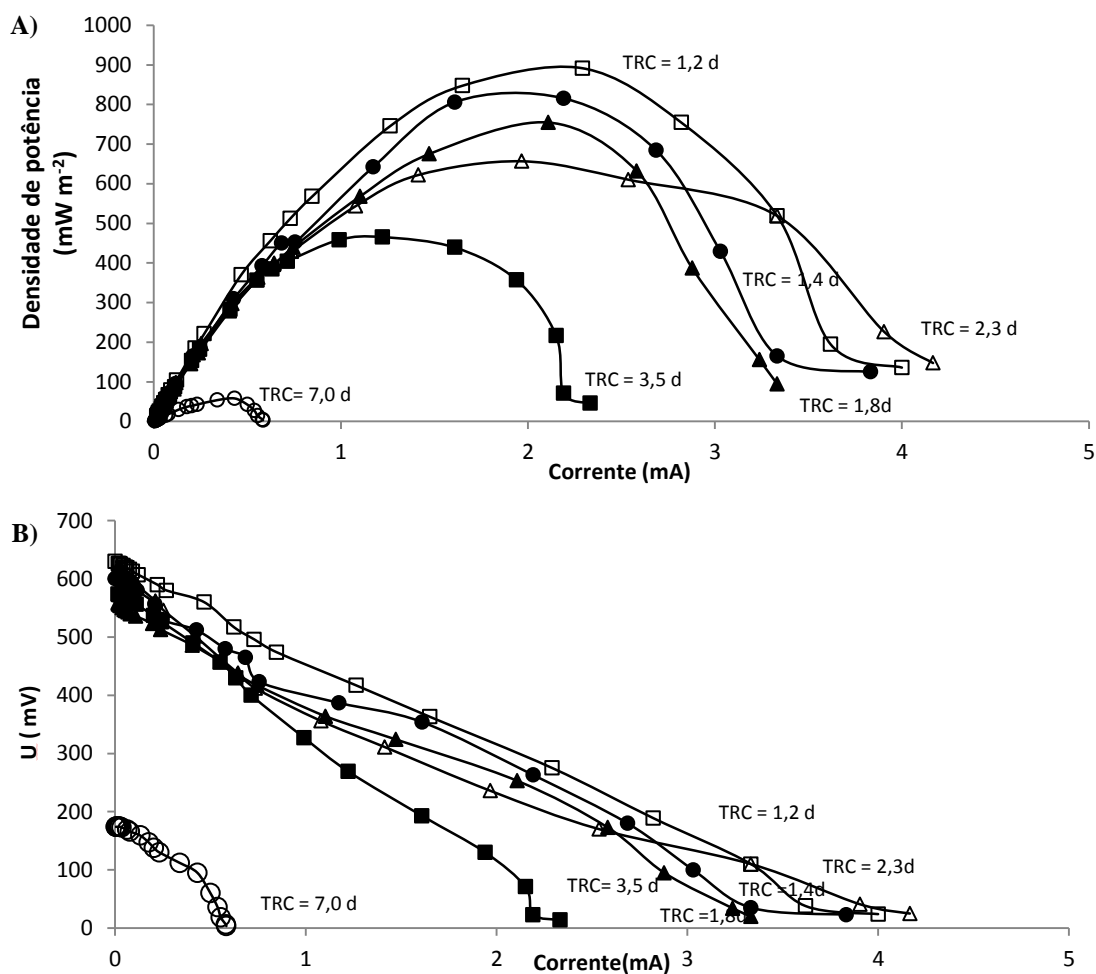


Figura 8.6: Curvas de polarização (A e B) obtidas na CCM alimentada com água residuária de produção de vinho em diferentes TRC: 1,2 (□), 1,4 (●), 1,8 (▲), 2,3 (△), 3,5 (■), 7,0 (○) d.

Tabela 8.2: Média de condutividade depois de cada ciclo diário para todos os TRC estudados.

TRC (d)	1,2	1,4	1,8	2,3	3,5	7,0
Condutividade (mS cm ⁻¹)	10,2	9,9	8,1	7,5	6,0	5,7

Os aumentos da tensão média da célula e da máxima densidade de potência observados nas curvas de polarização variaram linearmente com o TRC, como mostrado na Figura 8.7. Essa relação sugere que os microrganismos redutores do ânodo apresentam uma velocidade de crescimento superior aos microrganismos não eletrogênicos, prevalecendo os primeiros sobre os segundos nas comunidades microbianas quando o TRC foi reduzido. De fato, em baixos TRC aqueles microrganismos que tem uma pequena velocidade de crescimento são eliminados da CCM, pois necessitam de um longo tempo para se reproduzirem. Isso ajudou a eliminar microrganismos não eletrogênicos, como os metanogênicos e sulfetogênicos, quando a CCM foi operada em baixos TRC diminuindo a competição por substrato, como podem ser observados pelo incremento da COVE na diminuição do TRC (Figura 8.4).

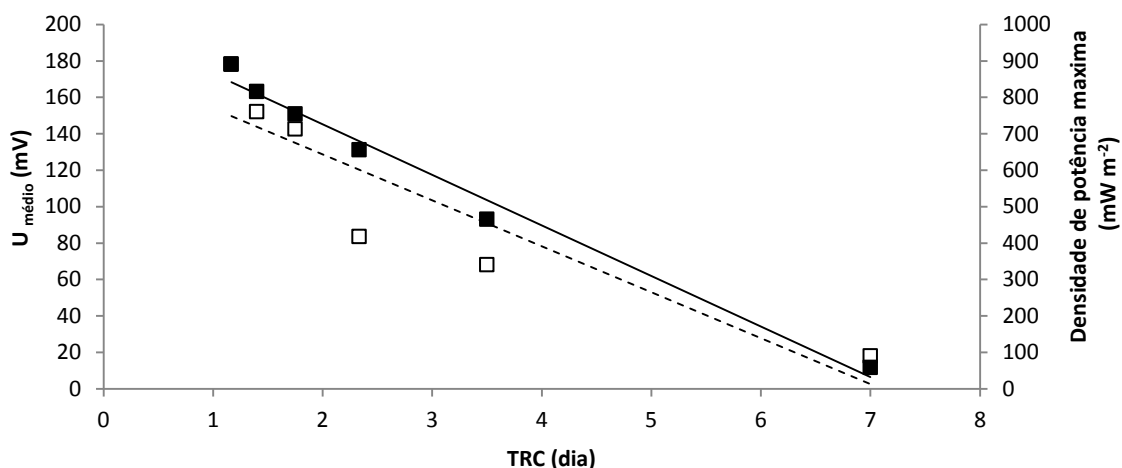


Figura 8.7: Relação entre a tensão elétrica média (□, tendência — —) e a densidade de potência máxima (■ e tendência —) em diferentes TRC estudados.

Vale a pena destacar que mesmo que mudanças significativas na eliminação de DQO não foram observadas para os diferentes TRC estudados, a atividade de microrganismos redutores do ânodo melhorou muito quando o TRC foi reduzido. Com a diminuição do TRC, maior quantidade de matéria orgânica foi processada pelos microrganismos eletrogênicos, mostrando a predominância desses microrganismos sobre os microrganismos não eletrogênicos. Esse predomínio pode ser claramente observado na Figura 8.8, que apresenta o perfil temporal da eficiência Coulombica calculada usando a energia gerada e a DQO consumida pela CCM. Quando o TRC foi de 1,2 d a eficiência Coulombica foi 18 vezes maior do que quando a CCM foi operada com TRC de 7,0 d (de 2,4% para 42,2%), mostrando que a redução do TRC favoreceu os microrganismos eletrogênicos. Esses valores de eficiência Coulombica podem ser considerados elevados, em particular se consideramos que a máxima eficiência esperada (para culturas puras de microrganismo bioeletrogênicos) não pode exceder 40% (GONZALEZ DEL CAMPO *et al.*, 2013; LOBATO *et al.*, 2012; RODRIGO *et al.*, 2009), pois esse é o valor típico de consumo catabólico da DQO (os 60% restantes são usados nas reações biológicas assimilativas). Neste ponto, é interessante observar que as eficiências Coulombicas relatadas foram superiores àquelas observadas em outros estudos realizados por Cusick *et al.* (2010) e Pepe Sciarria *et al.* (2015) que usaram uma CCM de câmara única com cátodo ao ar (18% e 15%, respectivamente), para as quais as perdas ôhmicas são menores.

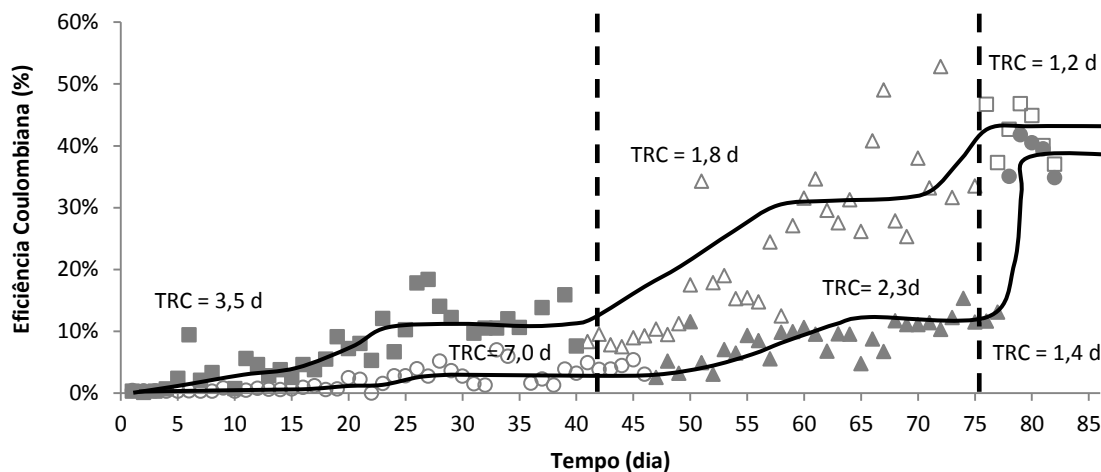


Figura 8.8: Eficiência Coulombiana durante a vida da CCM alimentada com água residuária de produção de vinho em diferentes TRC 1,2 (□), 1,4(●), 1,8(△), 2,3 (▲), 3,5(■), 7,0 (○) d e a tendência em cada caso estudado (—).

8.4 Considerações finais

Os resultados indicaram que o tempo de retenção celular (TRC) desempenha um papel relevante sobre a geração de energia elétrica usando CCM de dois compartimentos, corroborando com a sub-hipótese 6 deste trabalho.

O TRC não alterou de maneira significativa a remoção de matéria orgânica da água residuária de produção de vinho, pois somente uma pequena parte da DQO foi removida e foi similar em todos os TRC estudados. A taxa de consumo diário de DQO foi de $600 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ independente do TRC usado na CCM. Essa baixa eficiência de remoção de DQO está relacionada com a composição da água residuária e a presença de compostos recalcitrantes de difícil biodegradação.

No entanto, o TRC provocou mudanças significativas no consumo de nitrogênio e fósforo. A redução do TRC de 7,0 d para 1,2 d resultou num aumento no consumo de nitrogênio e fósforo de 137% e 111%, respectivamente (de 14 para $33 \text{ mg NT L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ e de 2,5 para $5,3 \text{ mg PT L}^{-1} \text{ d}^{-1}$). Além disso, as concentrações de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo não foram limitantes para operação CCM nos diferentes TRC estudados, pois as concentrações no final de cada ciclo diário não eram desprezíveis.

O tempo de retenção celular teve influência importante na geração de energia elétrica. A geração de energia elétrica direta pela CCM aumentou com a redução do TRC. A tensão elétrica média e a densidade de potência máxima aumentaram respectivamente de 18 mV para

178 mV e de 58 mW m⁻² para 891 mW m⁻² quando o TRC passou de 7,0 d para 1,2 d, indicando que os microrganismos bioeletrogênicos têm altas velocidades de crescimento, pois, caso contrário, esses seriam descartados do sistema o que diminuiria o desempenho da CCM.

A redução do TRC selecionou os microrganismos eletrogênicos e aumentou a carga orgânica volumétrica específica (COVE) reduzindo competição por substrato levando a elevados valores da eficiência Coulombica (42,2% quando TRC foi de 1,2 d), mostrando o predomínio dos microrganismos redutores do ânodo sobre os microrganismos não eletrogênicos.

9 INFLUÊNCIA DA CONFIGURAÇÃO DO ELETRODO DE CARBONO NA RECUPERAÇÃO DE ENERGIA A PARTIR DO TRATAMENTO DE ÁGUA RESIDUÁRIA DE PRODUÇÃO DE VINHO USANDO UMA CCM DE CÂMARA DUPLA

9.1 Introdução

Há algumas características necessárias para que o material se possa comportar como um bom eletrodo em CCM. Um bom candidato para o material do eletrodo tem que mostrar alta condutividade elétrica, boa estabilidade química, alta resistência mecânica e baixo custo (WEI *et al.*, 2011; ROSENBAUM *et al.*, 2007). Atualmente, os materiais mais usados são a base de carbono, pois eles preenchem vários destes requisitos gerais. Além disso, os materiais carbonáceos possuem alta biocompatibilidade para o crescimento microbiano como consequência das características da sua superfície, em particular a porosidade e a rugosidade (CHEN *et al.*, 2015).

Embora a escolha do material do eletrodo seja conhecido como um fator importante para a otimização do desempenho da CCM, a comparação de eletrodos carbonáceos não tratados não foi ainda avaliada. Barras de grafite, escovas de grafite, tecido de carbono, papel de carbono, feltro de carbono e carbono vítreo reticulado (RVC) são os principais eletrodos usados no ânodo das CCM, mas a comparação entre eles não foi bem estudados ainda. Portanto, o objetivo desta fase do trabalho foi avaliar o efeito de diferentes tipos de eletrodos carbonáceos de diferentes configurações (papel, tecido e feltro) na geração de energia elétrica e no tratamento de água residuária de produção de vinho em CCM de duas câmaras. Adicionalmente, a adesão microbiana ao ânodo e o consumo de agente oxidante do cátodo foram estudados para dar luz aos diferentes mecanismos envolvidos em cada um dos compartimentos da célula a combustível.

9.2 Material e Métodos

O protocolo experimental utilizado é semelhante ao descrito no item 7, no entanto o sistema de operação e a composição da água residuária de produção de vinho foi um pouco diferente como será descrito mais detalhadamente no item 9.2.1 e 9.2.2, respectivamente.

9.2.1 Célula a combustível microbiana e operação

As células a combustível microbianas (CCM) foram construídas em placas de madeira e placas de silicone cortadas na forma de quadrado com 7,0 cm de aresta e com 0,5 e 0,2 cm de espessura, respectivamente. No centro do quadrado, foi feito um pequeno cilindro com 0,5 cm de altura (0,3 cm na placa de madeira e 0,2 cm na placa de silicone) e 3,4 cm de diâmetro para cada compartimento da célula. Na parte inferior e superior da circunferência da placa de madeira foram feitos pequenos orifícios para a entrada e saída do anólito e do católito. Na Figura 9.1, está apresentado um esquema da instalação experimental utilizada neste ensaio.

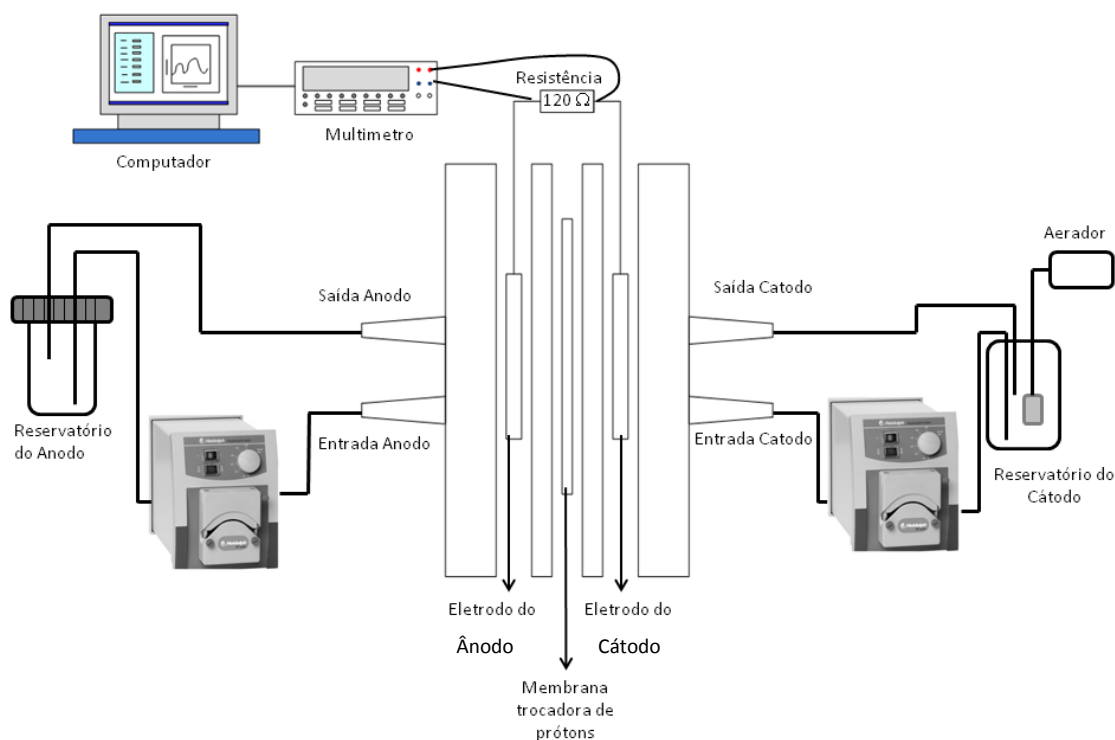


Figura 9.1: Esquema de todo o aparato experimental e da micro CCM usada no ensaio para avaliar a influência da configuração do eletrodo usando água residuária de produção de vinho.

A CCM de duas câmaras foi separada usando membrana Sterion[®] como membrana íon seletivo, pré-condicionada com 3% (v/v) de peróxido de hidrogênio, 0,5 mol L⁻¹ de ácido sulfúrico e água mili-Q. Entre as duas placas de silicone foi colocada a membrana de íon seletivo. O volume das câmaras do ânodo e do cátodo foi de 4 mL cada, respectivamente.

CCM foi operada em modo semi-contínuo e em temperatura ambiente (23 ± 2 °C). O ânodo da célula foi conectado a um reservatório de 110 mL e uma bomba peristáltica foi usada para circular o anolítico com vazão de 25 mL min^{-1} . Todos os dias 50 mL do anolito foram removidos do reservatório do ânodo e foram substituídos por combustível *in natura*, água residuária de produção de vinho bruta. O compartimento catódico funcionou da mesma maneira que o compartimento anódico. O cátodo da CCM foi conectado a um reservatório de 250 mL de água ácida (pH = 3,0 corrigido com ácido clorídrico) e uma bomba peristáltica bombeou o catolítico com vazão de 25 mL min^{-1} . Um sistema de compressor de ar e pedra porosa foi usado para fornecer oxigênio ao reservatório e ao cátodo da CCM. Para diminuir as perdas ôhmicas e as resistências internas, ambos eletrodos foram dispostos em contato direto com a membrana trocadora de prótons. Uma resistência externa de 120Ω e fios de aço inoxidável foram usados para conectar os eletrodos.

Os eletrodos utilizados tanto para o cátodo como para o ânodo foram de feltro de carbono (KFA10, SGL Carbon Group[®]), de tecido de carbono (Panex[®]30 PW03, Zoltex[®]) e de papel de carbono com 20% de Teflon (TGPH-120, Toray[®]). As características de cada um destes materiais estão apresentadas na Tabela 9.1. Foi usado um eletrodo em cada um dos compartimentos (de 3,0 cm de diâmetro e 7,0 cm² de área cada eletrodo).

Tabela 9.1: Características do papel de carbono, do feltro de carbono e tecido de carbonos usados como eletrodos na CCM de duas câmaras.

Parâmetros	Papel de carbono	Feltro de carbono	Tecido de carbono
Área específica ($\text{m}^2 \text{ g}^{-1}$)	0,8	35,3	31,3
Densidade superficial de massa (g m^{-2})	20	500	120
Densidade superficial de área específica ($\text{m}^2 \text{ m}^{-2}$)	16	17700	3500
Porosidade (%)	78	95	90
Rugosidade (μm)	8	30	15

9.2.2 Água residuária e inóculo

O inóculo usado no ânodo foi coletado do reator de lodos ativados da estação municipal de tratamento de esgoto de Ciudad Real (Espanha) e concentrado por sedimentação. A concentração de sólidos suspensos totais (SST) e sólidos suspensos voláteis (SSV) foi de 15,8 e 11,1 g L^{-1} , respectivamente. Para inocular a CCM, uma solução contendo

90% do inóculo e o restante de água residuária de produção de vinho foi preparada e, depois, adicionada ao ânodo da CCM.

A água residuária de produção de vinho foi coletada no tanque de equalização da estação de tratamento da vinícola Bodegas Crisve (Socuéllamos, Espanha), e armazenada a 4°C antes ser usada. A característica da água residuária de produção de vinho utilizada está apresentada na Tabela 9.2.

Tabela 9.2: Características da água residuária de produção de vinho usada no experiento sobre a influência dos materiais do eletrodo.

Parâmetros	Valores
pH	4,11
Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-2}$)	2030
DQO (mg L^{-1})	6850
DBO (mg L^{-1})	5000
COT (mg L^{-1})	1030
Nitrogenio total (mg L^{-1})	18,3
Fósforo total (mg L^{-1})	0,95
SO_4^{2-} (mg L^{-1})	810
Cl^- (mg L^{-1})	39,90

Bicarbonato de sódio (NaHCO_3) foi usado como tampão e para ajustar o pH a 6,5. Fosfato de sódio dibásico ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) e sulfato de amônio ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) foram adicionados para aumentar as concentrações de nitrogênio e fósforo para $10 \text{ mg P-PO}_4^{3-} \text{ L}^{-1}$ e $100 \text{ mg N-NT L}^{-1}$ de acordo com estudo sobre a disponibilidade de nutriente neste tipo de água residuária apresentado no item 7 (Penteado *et al.*, 2015).

9.2.3 Métodos analíticos

Condutividade, pH, e oxigênio dissolvido foram medidos usando o medidor de condutividade GLP 31 Crison[®], o medidor de pH GLP22 Crison[®] e o oxímetro Oxi 538 WTW[®]. A concentração de SST e de SSV foi medida gravimetricamente de acordo com o Standard Methods (APHA, 2005). A DQO e a concentração de fósforo foram medidas usando um espectrofotômetro (DR2000, HACH[®]) segundo protocolos estabelecidos pelo Standard Methods (APHA, 2005). O nitrogênio total foi monitorado usando o equipamento Multi N/C 3100 Analytik Jena. Os parâmetros elétricos (corrente, potência e eficiência Coulombica) foram calculados da mesma forma que apresentados no item 4.2.

No final da operação se desmontou a CCM, despreendeu-se a biomassa com água deionizada para realizar a quantificação de biomassa aderida no eletrodo (B.A.) por meio da série de sólidos (APHA, 2005). Media-se o volume de água de ionizada usado e determinava-se a quantidade de biomassa aderida pela área de eletrodo de acordo com a Equação 9.3.

$$B.A = \frac{STV_{aderido} V_{\text{água deionizada}}}{A_{\text{eletrodo}}} \quad (\text{Equação 9.3})$$

B.A: a concentração de biomassa aderida aos eletrodos (mg STV cm⁻²)

STV aderido: a concentração de sólidos totais voláteis no líquido do lavado (mg STV L⁻¹)

V_{água deionizada}: volume de água deionizado gasto para despender a biomassa (L)

A_{eletrodo}: área do eletrodo do qual a biomassa foi despreendida (cm²)

9.3 Resultados e Discussão

9.3.1 Geração de energia elétrica

Os perfis temporais da tensão elétrica gerada pelas três células a combustível operadas sob as mesmas condições de operação e de alimentação usando diferentes materiais de eletrodo (feltro de carbono, papel de carbono e tecido de carbono) estão apresentados na Figura 9.2.

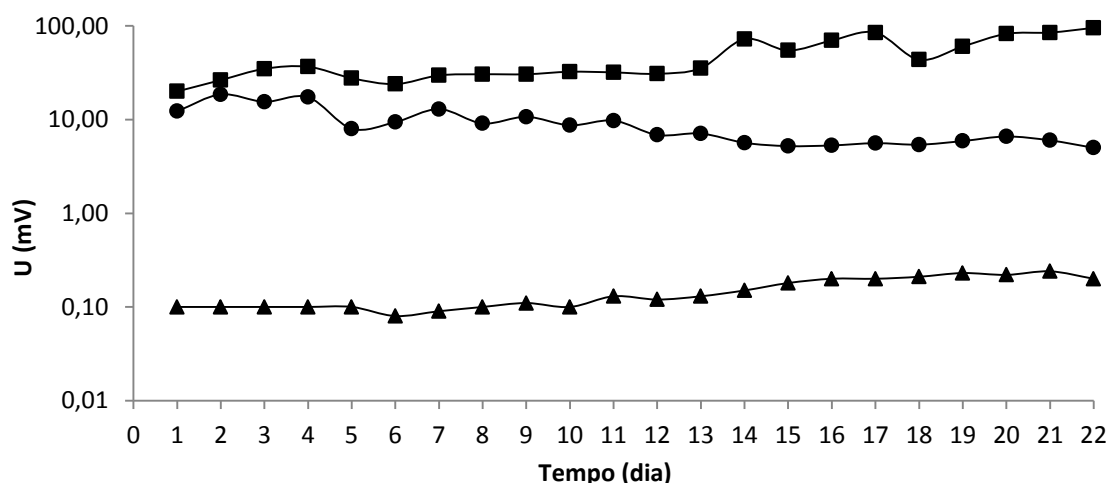


Figura 9.2: Variação temporal da tensão elétrica da CCM alimentado com água residuária de produção de vinho com diferentes materiais de eletrodos estudados: feltro de carbono (■), tecido de carbono (●) e papel de carbono (▲).

Como se pode observar na Figura 9.2, há uma clara influência do material do eletrodo na geração de energia pela CCM. A tensão elétrica gerada pela célula aumentou quase três

ordens de magnitude somente mudando o eletrodo de ambas as câmaras de papel de carbono para feltro de carbono mesmo a composição do eletrodo sendo carbono sp^2 . A CCM operada com tecido de carbono apresentou um comportamento intermediário de geração de tensão elétrica, muito melhor que o papel de carbono, porém pior que a célula que usou o feltro de carbono como eletrodo. Vale a pena mencionar que o papel de carbono usado era coberto com Teflon (20%) para melhorar a resistência mecânica. No entanto, isso pode ter diminuído a geração de tensão elétrica pela célula a combustível operada com o papel de carbono por causa da alta hidrofobicidade do eletrodo que dificultou o contato entre a água residuária e o eletrodo. Além do mais, o papel de carbono apresentou a menor rugosidade superficial e área específica (Tabela 9.1) do que os outros materiais o que dificultou a adesão microbiana nos eletrodos, como pode ser observado na Figura 9.3 que está apresentado a concentração de microrganismos aderidos ao ânodo (medidos em $mg\ SSV\ cm^{-2}$) no final da operação de cada material de eletrodo usado. A adesão microbiana seguiu a mesmo comportamento que o observado na tensão elétrica gerada pela célula, o eletrodo de feltro de carbono apresentou o maior valor de biomassa aderida, seguido do tecido de carbono e por último o papel de carbono.

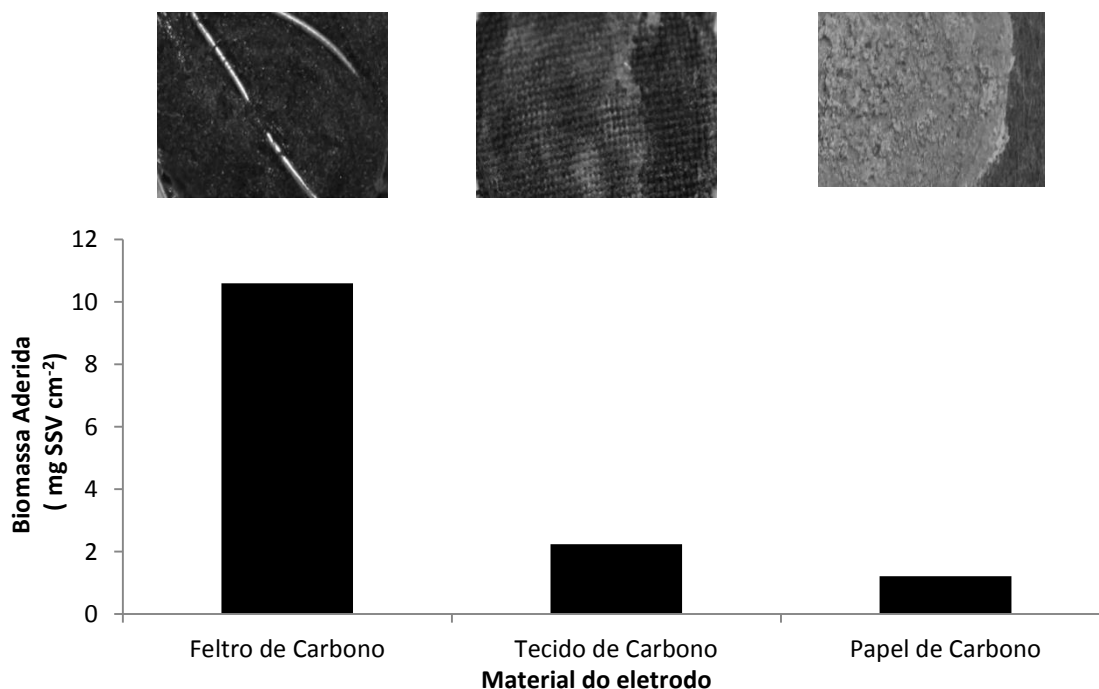


Figura 9.3: Concentração dos microrganismos aderidos no eletrodos do ânodo da CCM alimentadas com água residuária de produção de vinho com os diferentes materiais de eletrodos estudados e fotografia da distribuição dos microrganismos no feltro de carbono, tecido de carbono e papel de carbono.

Na parte superior da Figura 9.3, as fotos dos ânodos mostram macroscopicamente a distribuição dos microrganismos aderidos em cada tipo de eletrodo estudado. Vale a pena

notar que o eletrodo de feltro de carbono exibiu uma distribuição mais homogênea da comunidade microbiana do que os eletrodos de tecido e de papel de carbono, como resultado da maior porosidade, área específica e rugosidade apresentada por este eletrodo (Tabela 9.1). Os microrganismos aderidos no tecido e no papel de carbono formaram camadas que podem ter diminuído o contato entre os microrganismos e o eletrodo e, conseqüentemente, a transferência de elétrons e a geração de energia elétrica direta.

A conformação do material do eletrodo é um parâmetro muito importante, mais importante que a composição do eletrodo e pode justificar as grandes diferenças no desempenho das células a combustível apresentados neste trabalho.

Para avaliar ainda mais a influência do material do eletrodo, foram realizadas curvas de polarizações, periodicamente, durante o funcionamento da CCM para cada condição estudada. Na Figura 9.4, as três curvas de polarização obtidas nos diferentes dias de operação (5°, 12° e 19° dia de operação) estão apresentadas. Pode-se observar que o desempenho da CCM melhora com o passar do tempo e também é interessante destacar a grande diferença entre os resultados obtidos nos três tipos de material de eletrodo.

Tipicamente, as curvas de polarização mostram três zonas diferentes: perdas de ativação, perdas ôhmicas e perdas por transferência de massa (LOGAN *et al.*, 2006). Quando o feltro de carbono foi usado como eletrodo (Figura 9.4A e 9.4B), somente duas zonas podem ser observadas nas curvas de polarização: as perdas de ativação e ôhmicas, mostrando que a terceira zona comumente associada a perdas por transferência de massa, não foi significativa para esse material. Usando papel ou tecido de carbono como eletrodo da CCM, foi possível identificar as três zonas das curvas de polarização: o primeiro declínio da tensão elétrica quando as perdas de ativação são dominantes; depois a tensão elétrica diminui mais moderadamente prevalecendo às perdas ôhmicas e a última parte com o decaimento associado às limitações de transferência de massa (Figuras 9.4C a 9.4F).

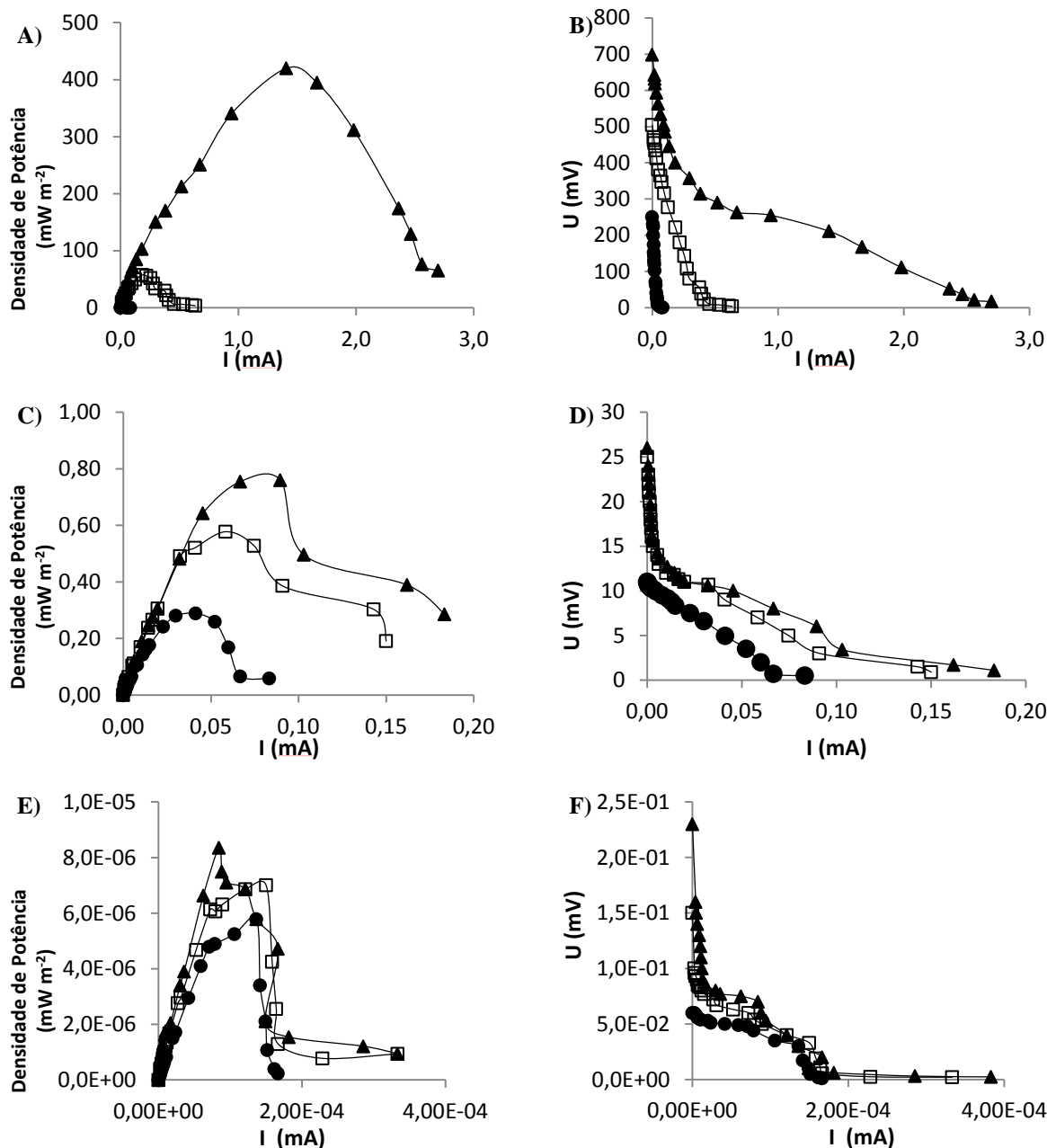


Figura 9.4: Curva de polarização obtidas na CCM alimentada com água residuária de produção de vinho em diferentes materiais de eletrodo usados: feltro de carbono (A e B), tecido de carbono (C e D) e papel de carbono (E e F) em diferentes dias de operação: 5° (●), 12° (□) e 19° (▲).

A densidade de potência gerada foi influenciada pelo material do eletrodo. Quando o feltro de carbono foi usado como eletrodo, a CCM apresentou a densidade de potência máxima de 420 mW m^{-2} (211 mV , Figuras 9.4A e 4B). A utilização de tecido de carbono como eletrodo no ânodo e no cátodo da CCM resultou em substancial piora da densidade de potência máxima na ordem de duas magnitudes quando comparado à CCM operada com feltro de carbono. A densidade de potência máxima atingida com o tecido de carbono foi de $0,76 \text{ mW m}^{-2}$ (Figuras 9.4C e 9.4D). Quando o papel de carbono foi usado como eletrodo, a

densidade de potência foi muito inferior à observada na CCM operada com o feltro de carbono, atingindo o valor máximo de $8,37 \cdot 10^{-6} \text{ mW m}^{-2}$ (Figuras 9.4E e 9.4F). Essas significativas diferenças nas densidades de potência podem ser uma consequência da quantidade de biomassa aderida ao eletrodo e a redução das perdas ôhmicas, embora as informações macroscópicas fornecidas pelas fotos e pela quantidade de microrganismos aderidos não apresentam diferenças tão relevantes quanto as apresentadas pelas densidades de potência.

9.3.2 Tratamento da água residuária no ânodo da CCM

Os valores médios de DQO, nitrogênio e fósforo total antes e depois do ciclo diário estão mostrados na Figura 9.5 para cada material de eletrodo de CCM estudado. Pode-se observar que somente uma pequena fração da matéria orgânica presente na água residuária foi removida durante a operação das CCM. Essa observação pode ser explicada em termos da fração de substâncias recalcitrantes contida na água residuária de produção de vinho (PEPE SCARINA *et al.*, 2015).

Além disso, a remoção de DQO parece ser dependente do material do eletrodo usado na CCM. Quando o feltro de carbono foi usado, a CCM atingiu a maior taxa de consumo de $650 \text{ mg DQO L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ e, como consequência, apresentou a maior eficiência de remoção de matéria orgânica (11%). Usando tecido de carbono, a taxa de consumo de matéria orgânica diminuiu em aproximadamente $170 \text{ mg DQO L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, atingindo o valor de $480 \text{ mg DQO L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. O menor valor foi observado quando o papel de carbono foi usado como eletrodo da CCM, com taxa de consumo média de $270 \text{ mg DQO L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Essas diferenças observadas na velocidade de consumo de matéria orgânica podem ser associadas à concentração de microrganismos aderidos a superfície dos eletrodos que usaram a matéria orgânica para gerar energia. Como mostrado na Figura 9.3, a concentração de biomassa aderida no feltro de carbono foi uma ordem de magnitude maior que a observada no papel carbono o que pode ajudar a entender a maior taxa de consumo de matéria orgânica no primeiro eletrodo do que no outro.

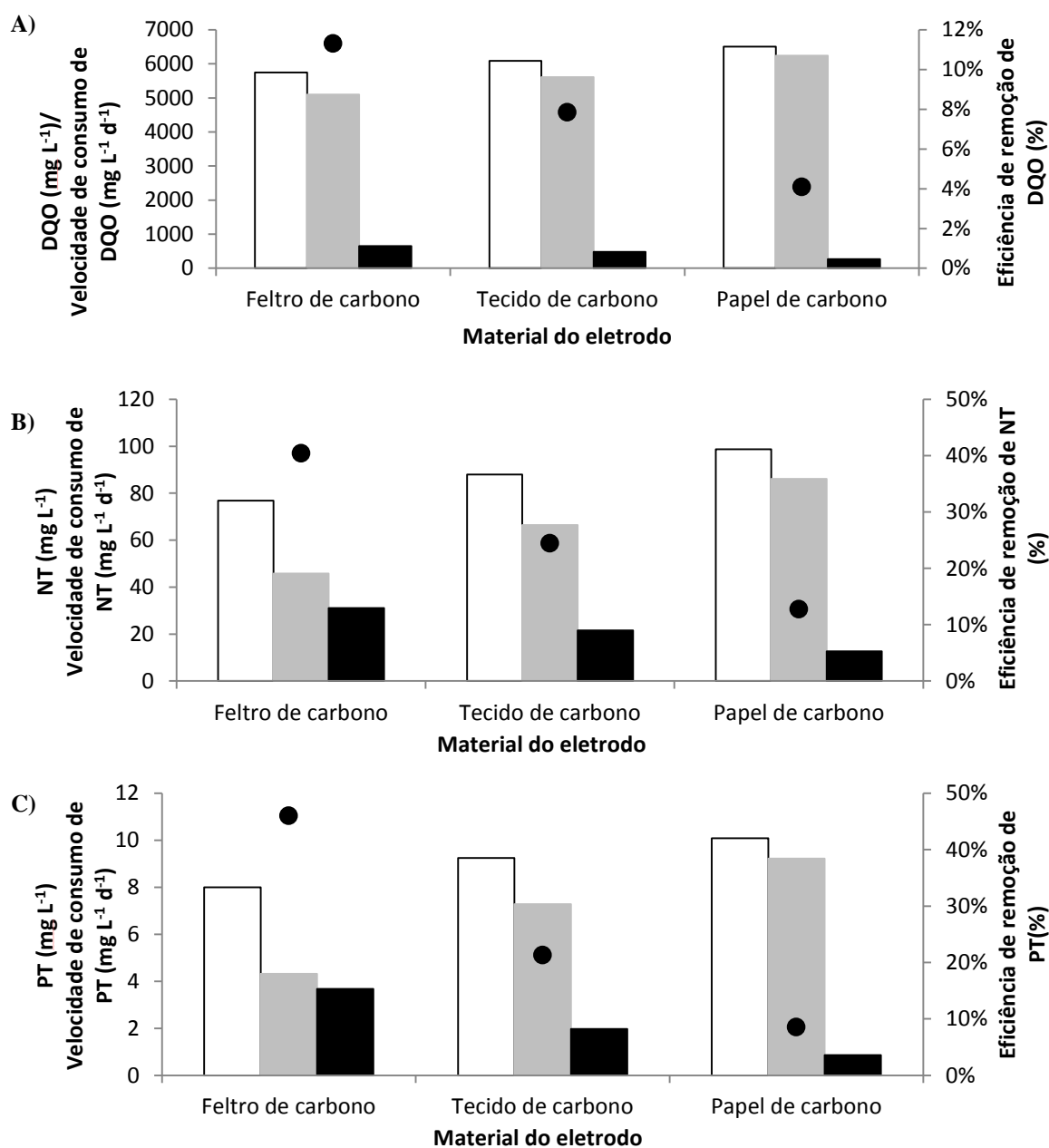


Figura 9.5: Valores médios de DQO (A), nitrogênio total (NT, B) e fósforo total (PT, C) antes (□) e depois (■) do ciclo diário de reação, a velocidade de consumo (■) e a eficiência (●) no diferentes materiais de eletrodo estudados na CCM alimentada com água residuária de produção de vinho.

Mesmo com diferentes materiais de eletrodo, a eficiência de remoção de DQO diária foi menor do que os observados por outros autores que relatam rendimentos de cerca de 70% e 30% para o mesmo tipo de água residuária utilizada, porém usando outra configuração de CCM (CUSICK *et al.*, 2010; SCIARRIA *et al.*, 2015). Há vários processos envolvidos na produção de vinho e a sazonalidade também pode causar grandes variações nas características da água residuária desta indústria que podem explicar essa discrepância na remoção de DQO com relação a outros trabalhos publicados na literatura. Também outros fatores podem influenciar o desempenho da CCM, por exemplo, as condições operacionais (temperatura,

tempo de ciclo, tempo de retenção celular), inóculo e configuração da célula a combustível. De qualquer forma, é importante saber que embora a remoção de DQO tenha sido baixa, a concentração de matéria orgânica nunca foi um fator limitante para o funcionamento da CCM, pois no final de cada ciclo diário havia uma concentração remanescente de matéria orgânica ainda disponível para ser consumida (Figura 9.5), não atrapalhando o funcionamento da CCM.

As velocidades de consumo de nitrogênio total e fósforo total para os diferentes materiais de eletrodos testados estão apresentados nas Figuras 9.5B e 9.5C, respectivamente. Quando feltro de carbono foi usado, a CCM atingiu as maiores velocidades de consumo de nitrogênio e fósforo ($31 \text{ mg NT L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ e $3,7 \text{ mg PT L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, respectivamente). Usando tecido de carbono as velocidades de consumo destes nutrientes diminuíram atingindo os valores de $21 \text{ mg NT L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ e $2,0 \text{ mg PT L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Os menores valores foram observados quando o papel de carbono foi usado como eletrodo $12,6 \text{ mg NT L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ e $0,9 \text{ mg PT L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. O consumo de nutriente está relacionado com o consumo de matéria orgânica e, como esperado, eles seguem a mesma tendência do que o observado para a DQO. Além disso, pode-se apontar que as concentrações de nitrogênio e fósforo não foram fatores limitantes para a operação da CCM visto que no final de cada ciclo diário a concentração não era desprezível (Figuras 9.5B e 9.5C).

9.3.3 Consumo de oxigênio dissolvido no cátodo da CCM

No compartimento do cátodo da CCM, o oxigênio é reduzido à água. Mesmo que a redução do oxigênio no cátodo da CCM seja uma reação bem conhecida e estabelecida, vale a pena não esquecer que esse processo é muito importante para a compreensão do desempenho da célula a combustível microbiana, pois os elétrons gerados a partir da oxidação do combustível no ânodo da CCM devem ser usados na reação de redução no cátodo da CCM. Por essa razão, a velocidade de consumo de oxigênio foi avaliada durante três diferentes dias da operação ao longo do período experimental, no 4º, 11º e 18º dia de operação das CCM.

A depleção na concentração de oxigênio dissolvido do cátodo da CCM depois da interrupção do fornecimento de ar está apresentada na Figura 9.6 para todos os tipos de material de eletrodo estudado durante uma hora. Como podem ser observadas para cada material de eletrodo testado, as curvas da concentração de oxigênio no 4º, 11º e 18º dia de operação foram bastante similares entre si, não apresentando variações significativas ao longo do período de operação (Figuras 9.6A-9.6C).

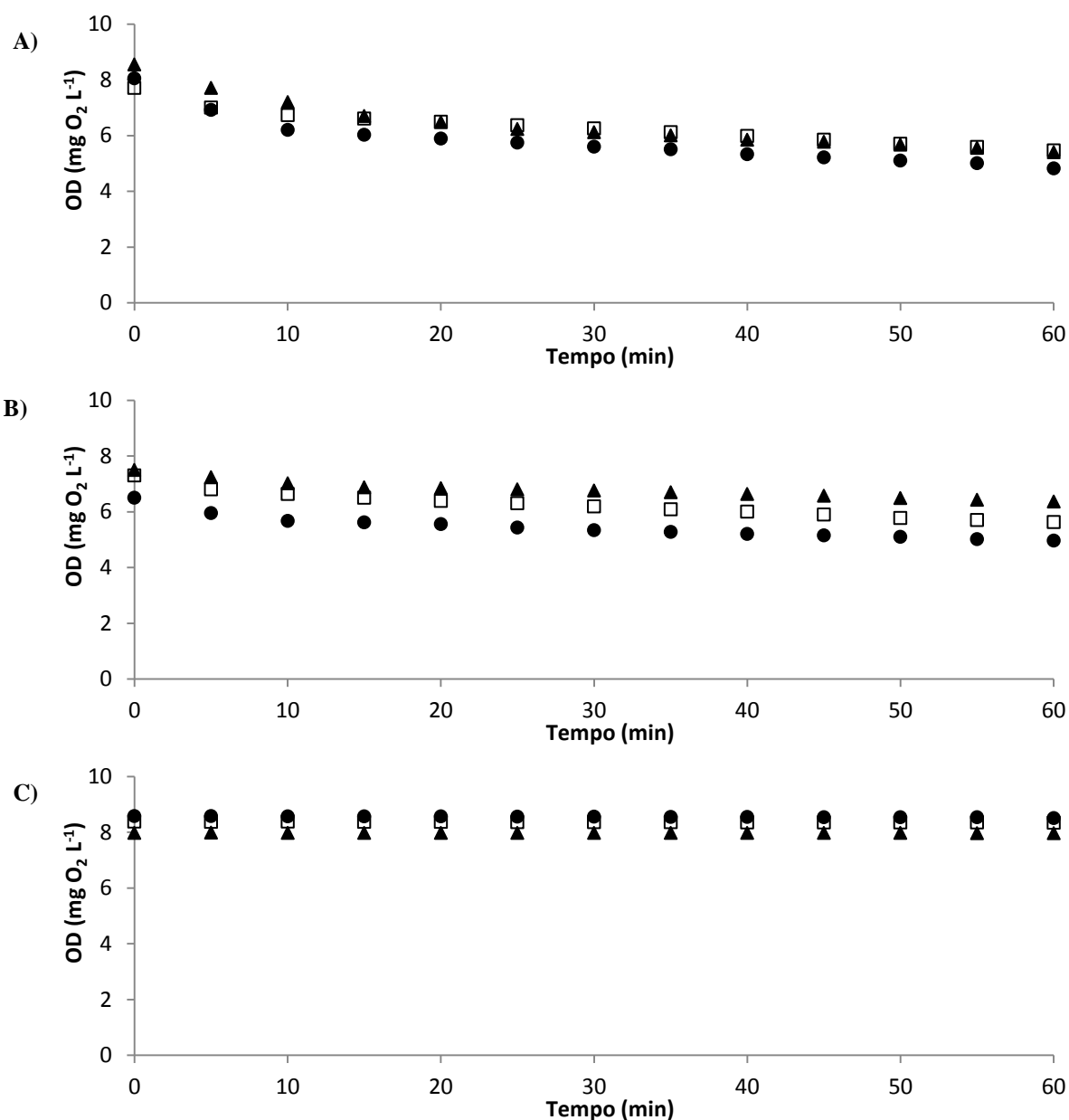


Figura 9.6: Curva de consumo de oxigênio dissolvido (OD) obtidas na CCM alimentadas com água residuárias de produção de vinho em diferentes matérias de eletrodos testados: feltro de carbono (A), tecido de carbono (B) e papel de carbono (C) em diferentes dias da operação: 4° (●), 11° (□) e 18° (▲) dia de operação.

Porém, é interessante observar que o material do eletrodo influenciou significativamente a velocidade de consumo de oxigênio no cátodo, a inclinação das curvas de depreciação de oxigênio dissolvido apresentados na Figura 9.6. O material de eletrodo mais eficiente na geração de energia elétrica foi também o que apresentou a maior velocidade de consumo de oxigênio (Figura 9.7). Como a oxidação da matéria orgânica pelos microrganismos na câmara do ânodo é acoplada com a redução do oxigênio na câmara do cátodo da CCM, a velocidade de consumo de oxigênio dissolvido foi quarenta vezes maior no feltro de carbono do que a obtida quando o papel de carbono foi usado como eletrodo da

CCM, o que justifica a maior geração de energia elétrica de duas ordens de magnitude pelo feltro de carbono.

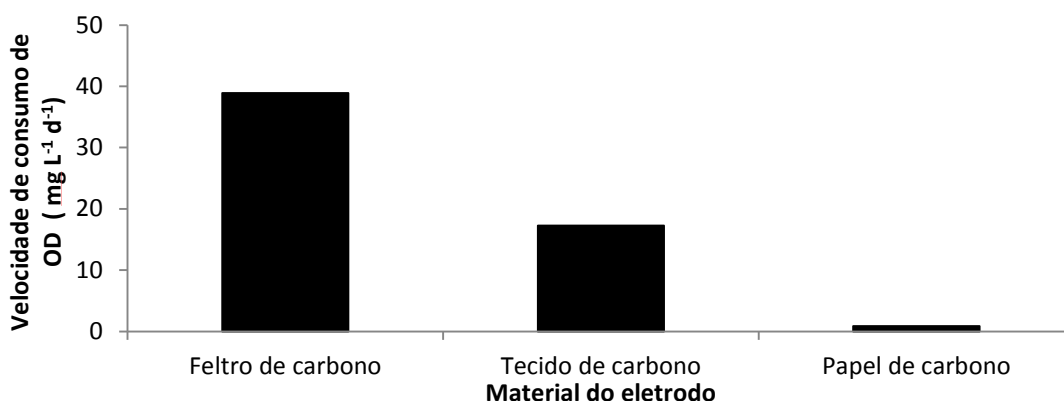


Figura 9.7: Velocidade média de consumo médio de oxigênio dissolvido no cátodo nos diferentes eletrodos usados nas CCM alimentadas com águas residuárias de produção de vinho.

9.4 Considerações Finais

Os resultados indicaram que a configuração do eletrodo afeta a geração de energia elétrica, a remoção de matéria orgânica e a adesão microbiana na CCM de dois compartimentos tratando água residuária de produção de vinho, validando a sub-hipótese 7 deste trabalho referente a influência do material do eletrodo no desempenho da CCM.

A geração de energia elétrica foi afetada pelas características do material do eletrodo. O feltro de carbono foi o material que apresentou a maior porosidade, rugosidade e densidade de área e, conseqüentemente, a maior adesão microbiana e a maior tensão elétrica gerada e a maior densidade de potência máxima de 100 mV e de 420 mW m⁻², respectivamente. O valor de tensão elétrica gerado pelo feltro de carbono foi uma e duas ordens de magnitude maior que o observado nos eletrodos de tecido de carbono e de papel de carbono, respectivamente.

Nas curvas de polarização da CCM usando feltro de carbono como eletrodo, não se observou a zona na qual as perdas por transferência de massa são dominantes diferentemente dos outros dois materiais, mostrando que a maior porosidade do feltro de carbono ajudou no processo de transferência de elétrons e de massa entre o meio líquido e os microrganismos.

O tipo de eletrodo influenciou significativamente a remoção de matéria orgânica da água residuária de produção de vinho. O feltro de carbono apresentou a maior taxa de consumo (650 mg DQO L⁻¹ d⁻¹) e a maior eficiência de remoção de matéria orgânica (11%), como consequência, da maior concentração de microrganismos aderidos a superfície dos eletrodos (10,6 mg SSV cm⁻²) e a maior porosidade que melhorou a transferência de massa

entre o meio líquido e os microrganismos. A baixa eficiência de remoção de DQO obtidas em todos os materiais estudados está relacionada com a composição da água residuária e a presença de compostos recalcitrantes de difícil biodegradação.

O consumo de nitrogênio e fósforo foi afetado pelo tipo de material do eletrodo. O feltro de carbono apresentou as maiores taxas de consumo ($31 \text{ mg NT L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ e $3,7 \text{ mg PT L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, respectivamente) devido a maior processamento da matéria orgânica pelos microrganismos.

As diferentes configurações de eletrodo também influenciaram a reação de redução de oxigênio no cátodo da CCM. O feltro de carbono foi o material de eletrodo mais eficiente na geração de energia elétrica e, também, o que apresentou a maior velocidade de consumo de oxigênio no cátodo da CCM ($39 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) devido a maior geração de elétrons pela oxidação da matéria orgânica pelos microrganismos no ânodo da CCM.

Portanto, o feltro de carbono é a melhor configuração de eletrodo a base de carbono entre os estudados devido as suas características físicas que facilitaram a adesão microbiana e a transferência de massa e elétrons.

10 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nos experimentos realizados neste trabalho de pesquisa permitem concluir que há forte influência das condições operacionais das células a combustível microbianas na remoção de matéria orgânica e na geração de energia elétrica direta no tratamento de água residuária. A escolha das condições de operação da CCM pode ser decisiva em relação à geração de bioenergia pela forte influência notada sobre a eficiência Coulombica e geração de tensão elétrica.

Além disso, a partir dos resultados obtidos e da discussão apresentada por este trabalho, pode-se concluir que:

- O tempo de detenção hidráulico (TDH) influencia a geração direta de energia elétrica, a remoção de matéria orgânica e a adesão e a comunidade microbiana em CCM sem membrana de íons seletiva composta por um reator de leito fixo anaeróbio-aeróbio de fluxo ascendente usando o próprio eletrodo como material suporte e água residuária sintética à base de sacarose. Menores TDH (2 h) favorecem a geração de energia direta e prejudicaram a remoção de matéria orgânica, enquanto que longos TDH (24 e 8 h) são mais eficientes na remoção da matéria orgânica e na adesão microbiana.
- A temperatura de operação afetou a geração direta de energia elétrica, a remoção de matéria orgânica, a adesão e a comunidade microbiana em CCM sem membrana de íons seletiva composta por um reator de leito fixo anaeróbio-aeróbio de fluxo ascendente usando o próprio eletrodo como material suporte e água residuária sintética à base de sacarose. A condição termofílica (55°C) gerou maior tensão elétrica devido a maior dominância da comunidade microbiana e menor adesão microbiana ao eletrodo. As condições mesofílicas (25°C) apresentaram maior remoção de matéria orgânica do que as condições termofílicas devido a maior adesão e diversidade microbiana e ao maior valor do coeficiente cinético aparente de consumo de matéria orgânica.
- A razão de recirculação do efluente no cátodo da CCM influenciou positivamente a geração de energia elétrica direta, a remoção de matéria orgânica e a adesão microbiana em CCM sem membrana de íon seletivo usando água residuária sintética à base de sacarose como combustível. O aumento da razão de recirculação do compartimento catódico aumentou a geração de energia elétrica e a

eficiência de remoção de matéria orgânica, uma vez que houve melhor transferência de massa do meio líquido para os microrganismos e do meio gasoso para o meio líquido. Além disso, quanto maior o valor da razão de recirculação do cátodo menor foi a concentração de biomassa aderida ao eletrodo e maior a disponibilidade de oxigênio dissolvido o que facilitou a reação entre os prótons, os elétrons e o agente oxidante, o oxigênio, aumentando a tensão elétrica gerada pela célula a combustível.

- A CCM sem membrana de íon seletiva e operada em condição termofílica foi capaz de remover a matéria orgânica da vinhaça de cana de açúcar e gerar energia elétrica direta. O tempo de detenção hidráulica desempenhou um papel importante no desempenho da CCM com relação à geração direta de eletricidade e a remoção de matéria orgânica. Baixo TDH (8 h) permitiu maior geração de energia e menor eficiência de remoção de matéria orgânica e menor adesão da comunidade microbiana ao eletrodo. Enquanto que longo TDH (24 h) removeu mais eficientemente a matéria, porém gerou menores valores de tensão elétrica.
- A CCM de dois compartimentos foi capaz de gerar energia elétrica usando água residuária de produção de vinho como combustível. O desbalanceamento entre a concentração de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo da água residuária de produção de vinho é um dos principais obstáculos para o uso desta tecnologia. A água residuária de produção de vinho com relação de DQO:N:P de 700:10:1 tem elevado potencial para gerar energia elétrica direta em CCM, embora não seja eficiente na remoção de matéria orgânica, porque somente uma pequena parte da matéria orgânica foi eliminada mesmo com a adição de nitrogênio e fósforo.
- O tempo de retenção celular (TRC) teve forte impacto sobre a geração de energia elétrica de uma CCM de dois compartimentos usando água residuária de produção de vinho como combustível. A geração de energia aumenta com a redução do TRC, pois o TRC selecionou os microrganismos eletrogênicos e aumentou a carga orgânica volumétrica específica (COVE) reduzindo a competição por substrato. Entretanto, o TRC não influenciou a remoção de matéria orgânica, pois somente uma pequena parte da DQO foi removida e foi similar em todos os TRC estudados.
- A configuração do eletrodo influenciou a geração de energia, a adesão microbiana e o tratamento de água residuária de produção de vinho em micro CCM de dois compartimentos. As características físicas do eletrodo como a porosidade, a

rugosidade e a densidade de área do eletrodo e a biocompatibilidade do eletrodo são fatores determinantes para aumentar o desempenho da CCM. Entre os eletrodos estudados, o feltro de carbono foi o material que apresentou os maiores valores dessas características e, conseqüentemente, teve a maior adesão microbiana, tensão elétrica gerada, potência máxima, eficiência de remoção de matéria orgânica e maior velocidade de consumo do agente oxidante.

- A escolha da configuração da CCM pode ser um fator decisivo para o seu desempenho, visto que as CCM com membranas de íons seletivos apresentam melhores rendimentos que as CCM sem membranas, uma vez que a membrana diminui a difusão do oxigênio para o ânodo. No entanto, as membranas podem aumentar as resistências ôhmicas diminuindo a geração de energia elétrica pela CCM. Além disso, alto custo das membranas pode ser um empecilho para a aplicação em tratamento de águas residuárias. Desta forma, a escolha da configuração da CCM deve levar em consideração tanto os aspectos técnicos e econômicos quanto os objetivos do uso da CCM.

11 Referências bibliográficas

- ADORNO, MARIA ANGELA TALLARICO ; HIRASAWA, JULIA S. ; VARESCHE, MARIA BERNADETE AMÂNCIO . Development and Validation of Two Methods to Quantify Volatile Acids (C2-C6) by GC/FID: Headspace (Automatic and Manual) and Liquid-Liquid Extraction (LLE). *American Journal of Analytical Chemistry*, v. 05, p. 406 - 414, 2014.
- AGÊNCIA EUROPEIA DE MEIO AMBIENTE. O Meio Ambiente na Europa. Carta de avaliação. Belgrado 2007
- AGENCIA INTERNACIONAL DE ENERGIA, **World Energy Outlook**, 2013 – <http://www.worldenergyoutlook.org> (acessado em 15/08/2015)
- AGIBERT, S. A.; MOREIRA, M. B.; RATUSZNEI, S. M.; RODRIGUES, J. A.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. Influence of temperature on performance of an anaerobic sequencing biofilm batch reactor with circulation applied to treatment of low-strength wastewater. *Applied biochemistry and biotechnology*, v. 136, n. 2, p. 193 - 206, 2007.
- AHN, Y.; LOGAN, B.E. Effectiveness of domestic wastewater treatment using microbial fuel cells at ambient and mesophilic temperatures. *Bioresource Technology*, v. 101, n. 2, p. 469 - 475, 2010.
- AKMAN, D.; CIRIK, K.; OZDEMIR, S.; OZKAYA, B.; CINAR, O. Bioelectricity generation in continuously-fed microbial fuel cell: Effects of anode electrode material and hydraulic retention time. *Bioresource Technology*, v. 149, p. 459-464, 2013.
- ALDROVANDI, A.; MARSILI, E.; STANTE, L.; PAGANIN, P.; TABACCHIONI, S.; GIORDANO, A. Sustainable power production in a membrane-less and mediator-less synthetic wastewater microbial fuel cell. *Bioresource Technology*, v. 100, n. 13, p. 3252 - 3260, 2009.
- ANDREOTTOLA, G. FOLADORI, P. ZIGLIO, G. Biological treatment of winery wastewater: an overview. *Water Science and Technology*, v.60, n. 5 p.1117–1125, 2009.
- APHA, AWWA, WPCF. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20th edition, American Public Health Association/ American Water Works Association/ Water Environmental Federation, Washington, DC, USA, 2005.
- BARROS AR, DE AMORIM ELC, REIS CM, SHIDA GM, SILVA EL. Biohydrogen production in anaerobic fluidized bed reactors: effect of support material and hydraulic retention time. *Intenational Journal of Hydrogen Energy*; v. 35, n. 8; p. 3379 - 3388, 2010.
- BEHERA, M.; MURTHY, S. S. R.; GHANGREKAR, M. M. Effect of operating temperature on performance of microbial fuel cell. *Water Science Technology*, v. 64, n 4, p 917 – 922, 2011.
- BIFFINGER, J.C., PIETRON, J., RAY, R., LITTLE, B. AND RINGEISEN, B.R. A biofilm enhanced miniature microbial fuel cell using *Shewanella oneidensis* DSP10 and oxygen reduction cathodes. *Biosensors & Bioelectronics*, v. 22, n. 8, p. 1672 - 1679, 2007.
- BNDES, Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social. Setor Sucroalcooleiro Brasileiro: Evolução e Perspectivas. 2008. (Disponível em http://www.bndes.gov.br/SiteBNDES/export/sites/default/bndes_pt/Galerias/Arquivos/conhecimento/liv_perspectivas/07.pdf acessado em 15 de junho de 2015)
- BRENNER, D.J., KRIEG, N.R., STALEY, J.T., 2005. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd ed. Springer, New York
- BROUWER J. On the role of fuel cells and hydrogen in a more sustainable and renewable energy future. *Current Applied Physics*; v. 10, n. 2 p. S9 - S17, 2010.
- CAPORASO, J. G.; KUCZYNSKI, J.; STOMBAUGH, J.; BITTINGER, K.; BUSHMAN, F.D.; COSTELLO, E.K.; FIERER, N.; PEÑA, A.G.; GOODRICH, J.K.; GORDON, J.I.; HUTTLEY, G.A.; KELLEY, S.T.;KNIGHTS, D.; KOENIG, J.E.; LEY, R.E.; LOZUPONE, C.A.; MCDONALD, D.; MUEGGE, B.D.; PIRRUNG, M.; REEDER, J.; SEVINSKY, J.R.; TURNBAUGH, P.J.; WALTERS, W.A.;

- WIDMANN, J.; YATSUNENKO, T.; ZANEVELD, J.; KNIGHT, R. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods*, v.7, n.5, p. 335 – 336, 2010
- CHANDHURI, S.K.; LOVLEY, D.R., Electricity Generation by Direct Oxidation of Glucose in Mediatorless Microbial Fuel Cells. *Nature Biotechnology*, v. 21, p. 1229 – 1232, 2003.
- CHEN, X.; CUI, D.; WANG, X.; WANG, X.; LI, W. Porous carbon with defined pore size as anode of microbial fuel cell. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 69, p. 135 – 141, 2015.
- CHOI, Y.; JUNG, E.; PARK, H.; PAIK, S. R.; JUNG, S.; KIM, S. Construction of Microbial Fuel Cells Using Thermophilic Microorganisms, *Bacillus licheniformis* and *Bacillus thermoglucosidasius*. *Bulletin of the Korean Chemical Society*. Vol. 25, n. 6, 813 - 818, 2004.
- COLE, J.R., WANG, Q., FISH, J.A., CHAI, B., MCGARRELL, D.M., SUN, Y., BROWN, C.T., PORRAS-ALFARO, A., KUSKE, C.R., TIEDJE, J.M., 2014. Ribosomal Database Project: data and tools for high throughput rRNA analysis. *Nucleic Acids Research*, v. 42, p. D633 - D642
- COLEY, D. Energy and Climate Change: Creating a Sustainable Future. New Jersey: John Wiley & Sons; 2008. 672 p.
- COSMI C, MACCHIATO M, MANGIAMELE L, MARMO G, PIETRAPERTOSA F, SALVIA M. Environmental and economic effects of renewable energy sources use on a local case study. *Energy Policy*, v. 31, n.5, p. 443 – 457, 2003.
- CUSICK, R.D., KIELY, P.D., LOGAN, B.E. A monetary comparison of energy recovered from microbial fuel cells and microbial electrolysis cells fed winery or domestic wastewaters. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 35, n. 17 , p. 8855 - 8861, 2010.
- DAS, D.; VEZIROGLU, T. N. Hydrogen production by biological processes: a survey of literature. *International Journal of Hydrogen Energy* , v. 26, n. 1, p. 13 - 28, 2001.
- DÖLL, M. M. R.; FORESTI, E. Efeito do bicarbonato de sódio no tratamento de vinhaça em reator anaeróbico em batelada sequencial a 55 e 35 °C. *Revista Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 15, n. 3, p. 275 - 282, 2010.
- DU, Z.; LI, H.; GU, T. A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. *Biotechnology Advances*, v. 25, n. 5, 464 - 482, 2007.
- FERRAZ JÚNIOR, A. D. N. (2013) Digestão anaeróbica da vinhaça de cana de açúcar em reator acidogênico de leito fixo seguido de reator metanogênico de manta de lodo. Tese (doutorado), Escola de Engenharia de São Carlos, USP.
- FONTES LIMA, D.M.; ZAIAT, M. The influence of the degree of back-mixing on hydrogen production in an anaerobic fixed-bed reactor. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 37, n. 12, p. 9630 – 9635, 2012.
- GANESH R, RAJINIKANTH, R., THANIKAL, J.V., RAMANUJAM, R.A., TORRIJOS, M (2010). Anaerobic treatment of winery wastewater in fixed bed reactors. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, v. 33, n. 5, p. 619 – 628, 2010.
- GIL, G.C.; CHANG, I.S.; KIM, B.H.; KIM, M.; JANG, J.K.; PARK, H.S.; KIM, H.J. Operational parameters affecting the performance of a mediator-less microbial fuel cell. *Biosensors & Bioelectronics*, v. 18, n. 4, p. 327 - 334, 2003.
- GOMES, A. S. de O. Desenvolvimento de uma célula microbiana com cultura pura de *Pseudomonas aeruginosa* em meio de cultura de glicerol. *Dissertação (mestrado)*, Instituto de Química de São Carlos, USP, 2011.
- GONZALEZ DEL CAMPO, A.; LOBATO, J.; CAÑIZARES, P.; RODRIGO, M. A.; MORALES, F. J. F. Short-term effects of temperature and COD in a microbial fuel cell. *Applied Energy*, v. 101, p.213 - 17, 2013.
- GRIFFITHS, R.I.; WHITELEY, A.S.; O'DONNELL, A.G.; BAILEY, M.J. Rapid method for coextraction of DNA and RNA from natural environments for analysis of ribosomal DNA- and rRNA-based microbial community composition. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 66, n. 12, p. 5488 - 5491, 2000.
- GRZEBYK, M.; POZNIAK, G. Microbial fuel cells (MFCs) with interpolymer cation exchange membranes. *Separation and Purification Technology*, v. 41, n. 3, p. 321 - 328, 2005.
- GUERRERO, A. L. K. SCOTT, HEAD, I. M.; MATEO, F.; GINESTA, A.; GODINEZ, C. Effect of

- temperature on the performance of microbial fuel cells. *Fuel* v. 89, n. 12, p. 3985–3994, 2010.
- HAMMER, Ø., HARPER, D.A.T., RYAN, P.D. Past: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica*, v. 4, n. 1, p. 1 – 9, 2001.
- HE, Z., MINTEER, S.D., ANGENENT, L.T., 2005. Electricity generation from artificial wastewater using an upflow microbial fuel cell. *Environmental Science and Technology*, v.38, n.14, p. 5262 – 5267, 2005.
- HIRASAWA, J. S.; SARTI, A. DEL AGUILA, N. K. S.; VARESCHE, M. B. A. Application of molecular techniques to evaluate the methanogenic archaea and anaerobic bacteria in the presence of oxygen with different DOD:Sulfate ratios in a UASB reactor. *Anaerobe*, v. 14, n. 4, p. 209 - 218, 2008.
- HÖÖK M, LI J, JOHANSSON K, SNOWDEN S. Growth rates of global energy systems and future outlooks. *Natural Resources Research*, v. 21, n. 1, p. 23 - 41, 2012.
- HÖÖK M, TANG X. Depletion of fossil fuels and anthropogenic climate change -A review. *Energy Policy*, v. 52, p. 797 - 809, 2013.
- HÖÖK M, BARDI U, FENG L, PANG X. Development of oil formation theories and their importance for peak oil. *Marine and Petroleum Geology*, v. 27, n. 9, p. 1995 – 2004, 2010.
- HUANG, L.; LOGAN, B. E. Electricity production from xylose in fed-batch and continuous-flow microbial fuel cells. *Applied Microbiology Biotechnology*, v. 80, n. 4, p. 655 – 664, 2008.
- HUANG, L.; LOGAN, B. E. Electricity generation and treatment of paper recycling wastewater using a microbial fuel cell. *Applied Microbiology Biotechnology*, v. 80, n. 2, p. 349 – 355, 2008b.
- ISHII, I. S.; SUZUKI, S.; NORDEN-KRICHMAR, T. M.; NEALSON, K. H.; SEKIGUCHI, Y.; GORBY, Y. A.; BRETSCHEGER, O. Functionally stable and phylogenetically diverse microbial enrichments from microbial fuel cells during wastewater treatment. *PLoS One*, v. 7, n. 2, p. 1 - 10, e30495.
- ISMAIL, Z. Z.; JAEEL, A. J. Sustainable Power generation in continuous flow microbial fuel cell treating actual wastewater: influence of Biocatalyst type on electricity production. *Scientific World Journal*, p. 1 - 7, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/713515> , 2013 .
- ITAIPU - www.itaipu.gov.br (acessado em 20/11/2012).
- JADHAV, G. S.; GHANGREKAR, M. M. Performance of microbial fuel cell subjected to variation in pH, temperature, external load and substrate concentration. *Bioresour. Technol.* v. 100, n.2, p. 717 – 723, 2009.
- JANG, J.K.; PHAM, T.H.; CHANG, I.S.; KANG, K.H.; MOON, H.; CHO, K.S.; KIM, B.H. Construction and operation of a novel mediator- and membrane-less microbial fuel cell. *Process Biochemistry* v. 39, n. 8, p. 1007 - 1012, 2004.
- JIA, J.; TANG, Y.; LIU, B.; WU, D.; REN, N.; XING, D. Electricity generation from food wastes and microbial community structure in microbial fuel cells. *Bioresour. Technol.* v. 144, p. 94 - 99, 2013.
- JONG, B. C.; KIM, B. H.; CHANG, I. S.; LIEW, P. W. ; CHOO, Y. F.; KANG, G. S. Enrichment, Performance, and Microbial Diversity of a Thermophilic Mediatorless Microbial Fuel Cell. *Environmental Science Technology*, v. 40, n. 20, p. 6449 - 6454, 2006.
- JUANG, D.F.; YANG, P.C.; KUO, T.H.. Effects of flow rate and chemical oxygen demand removal characteristics on power generation performance of microbial fuel cells. *International Journal of Environmental Science and Technology*, v.9, n. 2, p. 267 - 280, 2010.
- KAEWKANNETRA P.; CHIWES, W.; CHIU, T. Y. Treatment of cassava mill wastewater and production of electricity through microbial fuel cell technology. *Fuel*, v. 90, n. 8, p. 2746 – 2750, 2011.
- KHAN, M.I.; CHHETRI, AB; ISLAM, M. R. Community-based energy model: A novel approach to developing sustainable energy. *Energy Source Part B*, v. 2, n. 4, p. 353 – 370, 2007.
- KIELY, P. D.; CALL, D. F.; YATES, M. D.; REGAN, J. M.; LOGAN, B. E. Anodic biofilms in microbial fuel cells harbor low numbers of higher-power-producing bacteria than abundant genera. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 88, n. 1, p. 371 - 380, 2010.
- KLINDWORTH, A.; PRUESSE, E., SCHWEER, T.; PEPLIES, J.; QUAST, C.; HORN, M.; GLÖCKNER, F.O. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and nextgeneration sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Research*, v. 41, n.1, p. 1 – 11, doi:10.1093/nar/gks808, 2013.

- LEAÑO, E. P.; ANCENO, A. J.; BABEL, S. Ultrasonic pretreatment of palm oil mill effluent: Impact on biohydrogen production, bioelectricity generation, and underlying microbial communities. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 37, n. 17, p. 12241 - 12249, 2012.
- LEE D-J, LIU, X., WENG, H.-L. Sulfate and organic carbon removal by microbial fuel cell with sulfate-reducing bacteria and sulfide-oxidising bacteria anodic biofilm. *Bioresource Technology*, v 156, p 14 – 19, 2014.
- LI, X.; ZHU, N.; WANG, Y.; LI, P.; WU, P.; WU, J. Animal carcass wastewater treatment and bioelectricity generation in up-flow tubular microbial fuel cells: effects of HRT and non-precious metallic catalyst. *Bioresource Technology*, v. 128, p. 454 – 460, 2013.
- LIU, H.; CHENG, S.; LOGAN, B. E. Power generation in fed-batch microbial fuel cells as a function of ionic strength, temperature, and reactor configuration. *Environmental Science and Technology*, v. 39, n. 14, p 5488 – 5493, 2005.
- LIU, H.; RAMNARAYANAN, R.; LOGAN, B.E. Production of Electricity during Wastewater Treatment Using a Single Chamber Microbial Fuel Cell. *Environmental Science and Technology*, v. 39, n. 7; p. 2281 – 2288, 2005b.
- LIU, H.; CHENG, S.; HUANG, L.; LOGAN, B.E. Scale-up of membrane-free single-chamber microbial fuel cells. *Journal of Power Sources*, v. 179, n. 1, p. 274 – 279, 2008.
- LIU, Y.; TAY, J. H. The essential role of hydrodynamic shear force in the formation of biofilm and granular sludge. *Water Research*, v. 36, n. 7, p. 1653 – 1665, 2002.
- LOBATO J, CANIZARES, P., JESUS FERNANDEZ, F., RODRIGO, M.A. An evaluation of aerobic and anaerobic sludges as start-up material for microbial fuel cell systems. *New Biotechnology*, v. 29, n. 3, p. 415 - 420, 2012.
- LOGAN, B. E. *Microbial Fuel Cells*. New Jersey: John Wiley & Sons; 2008, 200p.
- LOGAN, B. E. AND RABAEY, K. Conversion of Wastes into Bioelectricity and Chemicals by Using Microbial Electrochemical Technologies. *Science*, v. 337, n. 6095, p. 686 – 690, 2012.
- LOGAN, B.E., CHENG, S.A., WATSON, V., ESTADT, G. Graphite fiber brush anodes for increased power production in air-cathode microbial fuel cells. *Environmental Science and Technology*, v. 41, n. 9; p. 3341 – 3346, 2007.
- LOGAN, B.E.; HAMELERS, B.; ROZENDAL, R.A.; SCHRORDER, U.; KELLER, J.; FREGUIA, S.; AELTERMAN, P.; VERSTRAETE, W.; RABAEY, K. Microbial fuel cells: Methodology and technology. *Environmental Science and Technology*, v. 40, n. 17, p. 5181 - 5192, 2006.
- LOVELY, D. R. The microbe electric: conversion of organic matter to electricity. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 19, n. 6, p. 564 – 571, 2008.
- LU N, ZHOU, S.-G., ZHUANG, L., ZHANG, J.-T., NI, J.-R (2009). Electricity generation from starch processing wastewater using microbial fuel cell technology. *Biochemical Engineering Journal*, v. 43, n. 3, p. 246 - 251, 2009.
- MARCON, L.R.C. Potencialidade da célula combustível microbiana para geração de energia elétrica a partir de esgoto sanitário. *Dissertação (mestrado), Escola de Engenharia de São Carlos, USP, São Carlos, 2011.*
- MARCON, L.R.C. Influência da configuração da célula combustível microbiana na geração de energia elétrica a partir da degradação de compostos orgânicos. *Tese (doutorado), Escola de Engenharia de São Carlos, USP, São Carlos, 2015.*
- MICHIE, I. S.; KIM, J. R.; DINSDALE, R. M.; GUWY, A. J.; PREMIER, G. C. Operational temperature regulates anodic biofilm growth and the development of electrogenic activity. *Applied Microbiology Biotechnology*, v. 92, n. 2, p. 419 – 430, 2011.
- MIN, B., LOGAN, B.E. Continuous electricity generation from domestic wastewater and organic substrates in a flat plate microbial fuel cell. *Environmental Science and Technology*, v. 38, n. 28, p. 5809 – 5814, 2004.
- MIN, B.; KIM, J.R.; OH, S.E.; REGAN, J.M.; LOGAN, B.E. Electricity generation from swine wastewater using microbial fuel cells. *Water Research*, v. 39, n. 20, p. 4961 – 4968, 2005.
- MIN, B.; ROMÁN, O. B.; ANGELIDAKI, I. Importance of temperature and anodic medium composition on microbial fuel cell (MFC) performance. *Biotechnology Letters*, v. 30, n. 7, p. 1213 – 1218, 2008.

- MINISTÉRIO DE AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (2015). Análise Comparativa do Desempenho das Safras 2014/2015 e 2013/2014 - Dados Acumulados. (Disponível em visitado em http://www.udop.com.br/download/estatistica/institucional_economia/27abr15_analise_comparativa_acumulado.pdf acessado em 15 de junho de 2015)
- MOON, H.; CHANG, I. S.; JANG, J. K.; KIM, B. H. Residence time distribution in microbial fuel cell and its influence on COD removal with electricity generation. *Biochemical Engineering Journal*, v. 27, p. 59 – 65, 2005.
- NIMJE, V. R.; CHEN, C.; CHEN, C. C.; JEAN, J. S.; REDDY, A. S.; FAN, C.W.; PAN, K.Y.; LIU, H.T.; CHEN, J. L. Stable and high energy generation by a strain of *Bacillus subtilis* in a microbial fuel cell. *Journal of Power Sources*, v. 109, n. 2, p. 258 - 263, 2009.
- NUBEL, U.; ENGELEN, B.; FELSKA, A.; SNAIDR, J.; WIESHUBER, A.; AMANN, R. I.; LUDWIG, W.; BACKHAUS, H. Sequence heterogeneities of genes encoding 16S rRNAs in *Paenibacillus polymyxa* detected by temperature gradient gel electrophoresis. *Journal of Bacteriology*, v. 178, n. 19, p. 5636 - 5643, 1996.
- OH, S.T.; KIM, J.R.; PREMIER, G.C.; LEE, T.H.; KIM, C.; SLOAN, W.T. Sustainable wastewater treatment: How might microbial fuel cells contribute. *Biotechnology Advances*, v. 28, n. 6, p. 871 - 881, 2010.
- O-THONG, S.; PRASERTSAN, P.; BIRKELAND, N-K. Evaluation of methods for preparing hydrogen-producing seed inocula under thermophilic condition by process performance and microbial community analysis. *Bioresource Technology*, v. 100, n. 2, p. 909 – 918, 2009.
- PAINEL INTERGOVERNAMENTAL DE MUDANÇAS CLIMÁTICAS (Intergovernmental Panel on Climate Change ,IPCC). Climate change, 2014:Synthesis Report. Cambridge: Cambridge University Press; 2014.
- PARK, H.S.; KIM, B.H.; KIM, H.S.; KIM, H.J.; KIM, G.T.; KIM, M.; CHANG, I.S.; PARK, Y.K.; CHANG, H.I. A novel electrochemically active and Fe(III)-reducing bacterium phylogenetically related to *Clostridium butyricum* isolated from a microbial fuel cell. *Anaerobe*, v. 7, n. 6, p. 297 – 306, 2001.
- PARKS, D.H., TYSON, G.W., HUGENHOLTZ, P., BEIKO, R.G. STAMP: statistical analysis of taxonomic and functional profiles. *Bioinformatics*, v. 30, n. 21, p. 3123 – 3124, 2014.
- PATIL, S. A.; HARNISCH, F.; KAPADNIS, B.; SCHRÖDER, U. Electroactive mixed culture biofilms in microbial bioelectrochemical systems: the role of temperature for biofilm formation and performance. *Biosensors Bioelectronic*, v. 26, n. 2, p. 803 – 808, 2010.
- PENTEADO, E. D. Influência da origem e do pré-tratamento do inóculo na produção biológica de hidrogênio a partir de águas residuárias em biorreatores anaeróbio. *Dissertação (mestrado)*, Escola de Engenharia de São Carlos, USP, São Carlos, 2012.
- PENTEADO, E. D.; FERNANDEZ-MARCHANTES, C. M.; ZAIAT, M.; GONZALEZ, E. R.; RODRIGO, M. A. R. Energy recovery from winery wastewater using a dual chamber microbial fuel cell. *Journal of chemical technology and biotechnology*, in press, 2015.
- PEPE SCIARRIA, T.; MERLINO, G.; SCAGLIA, B.; D'EPIFANIO, A.; MECHERI, B.; BORIN, S.; LICOCIA, S.; ADANI, F. Electricity generation using white and red wine lees in air cathode microbial fuel cells. *Journal of Power Sources*, v. 274, p. 393 – 399, 2015.
- PHAM, H.T.; BOON, N.; AELTERMAN, P.; CLAUWAERT, P.; SCHAMPHELAIRE, L.D.; OOSTVELDT, P.; VERBEKEN, K.; RABAEY, K.; VERSTRAETE, W. High shear enrichment improves the performance of the anodophilic microbial consortium in a microbial fuel cell. *Microbiology Biotechnology*, v. 1, n. 6, p 487 - 496, 2008.
- POTTER, M. C. Electrical Effects Accompanying the Decomposition of Organic Compounds. *Proceedings B Royal Society*, v. 84, n. 571, p. 260 - 276,1911.
- RABAEY, K., ANGENENT, L., SCHRODER, U., KELLER, J., Bioelectrochemical Systems: From Extracellular Electron Transfer to Biotechnological Application, London: IWA Publishing, 2009, 524 p.
- RABAEY, K.; BOON, N.; HOFTE, M.; VERSTRAETE, W. Microbial phenazine production enhances electron transfer in biofuel cells. *Environmental Science and Technology*, v. 39, n. 9, p. 3401 - 3408, 2005.
- RABAEY, K.; VERSTRAETE, W. Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation. *Trends in Biotechnology*, v. 23, n. 6, p. 291 - 298, 2005.

- RAHIMNEJAD, M.; GHOREYSHI, A. A.; NAJAFPOUR, G.; JAFARY, T. Power generation from organic substrate in batch and continuous flow microbial fuel cell operations. *Applied Energy*, v. 88, n. 11, p. 3999 - 4004, 2011.
- RATTI, R. P.; DELFORNO, T. P.; OKADA, D. Y.; VARESCHE, M. B. A. Bacterial communities in thermophilic H₂- producing reactors investigated using 16S rRNA 454 pyrosequencing. *Microbiological Research*, v. 173, p.10 - 17, 2015.
- RINALDI, A.; MECHERI, B.; GARAVAGLIA, V.; LICOC CIA, S.; DI NARDO, P.; TRAVERSA, E. Engineering materials and biology to boost performance of microbial fuel cells: a critical review; *Energy Environmental Science*, v.1, n. 4, p. 417 - 429, 2008.
- RISMANI-YAZDI, H.; CARVER, S. M.; CHRISTY, A. D.; YU, Z.; BIBBY, K.; PECCIA, J.; TUOVINEN, O. H. Suppression of methanogenesis in cellulose-fed microbial fuel cells in relation to performance, metabolite formation, and microbial population. *Bioresource Technology*, v. 129, p. 281 - 288, 2013.
- RODRIGO, M.A.; CAÑIZARES, P.; GARCÍA, H.; LINARES, J. J.; LOBATO, J. Study of the acclimation stage and of the effect of the biodegradability on the performance of a microbial fuel cell. *Bioresource Technology*, v. 100, n. 20, p 4704 – 4710, 2009.
- RODRIGO, M.A.; CANIZARES, P.; LOBATO, J.; PAZ, R.; SAEZ, C.; LINARES, J.J. Production of electricity from the treatment of urban waste water using a microbial fuel cell. *Journal of Power Sources*, v. 169, p. 198 – 204, 2007.
- RODRIGO, M.A., SECO, A., PENYAROJA, J.M. & FERRER, J. Influence of sludge age on enhanced phosphorus removal in biological systems. *Water Science and Technology*, v. 34, n.1-2, p. 41 – 48, 1996.
- RODRIGUEZ L, VILLASENOR, J., BUENDIA, I.M., FERNANDEZ, F.J (2007). Re-use of winery wastewaters for biological nutrient removal. *Water Science and Technology*, v. 56, n. 2, p. 95-102, 2007.
- RODRIGUEZ, R. P.; ZAIAT, M. Influence of carbon source and inoculum type on anaerobic biomass adhesion on polyurethane foam in reactors fed with acid mine drainage. *Bioresource Technology*, v. 102, n. 8, p. 5060 - 5065, 2011.
- ROSENBAUM, M.Z.F.; QUAAS, M.; WULFF, H.; SCHRÖDER, U.; SCHOLZ, F., Evaluation of catalytic properties of tungsten carbide for the anode of microbial fuel cells. *Applied Catalysis B: Environmental*, v. 74, n. 3-4, p. 261 – 269, 2007.
- SALOMON, K. R.; LORA, E. E. S.. Estimate of the electric energy generation potential for different sources of biogas in Brazil. *Biomass and Bioenergy*, v. 33, n. 9, p 1101–1107, 2009
- SANTORO, C.; BABANOVA, S.; ARTYUSHKOVA, K.; CORNEHO, J. A.; ISTA, L. BRETSCHGER, O.; MARSILI, E.; ATANASSOV, P.; SCHULER, A. J. Influence of anode surface chemistry on microbial fuel cell operation. *Bioelectrochemistry*, v.106, p. 141 - 149, 2015.
- SANTOS, S. C. Produção de hidrogênio em reator anaeróbico de leito fluidificado termofílico com vinhaça como substrato orgânico. Tese (doutorado), Escola de Engenharia de São Carlos, USP, 2014.
- SCHRÖDER, U. Anodic electron transfer mechanisms in microbial fuel cells and their energy efficiency. *Physical Chemistry Chemical Physics*, v. 9, n. 21, 2619–2629, 2007.
- SCIARRIA, T.P.; TENCA, A.; D'EPIFANIO, A.; MECHERI, B.; MERLINO, G.; BARBATO, M.; BONIN, S.; LICOC CIA, S.; GARAVAGLIA, V.; ADANI, F. Using olive mill wastewater to improve performance in producing electricity from domestic wastewater by using single-chamber microbial fuel cell. *Bioresource Technology*, v. 147, p. 246 – 253, 2013.
- SHARMA, Y.; LI, B. Optimizing energy harvest in wastewater treatment by combining anaerobic hydrogen producing biofermentor (HPB) and microbial fuel cell (MFC). *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 35, n. 8, p. 3789 - 3797, 2010.
- SPEECE, R.E. Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment. *Environmental Science and Technology*, v. 17, n. 9, p. 416A – 427A, 1983.
- SUN, J.J.; ZHAO, H.Z.; YANG, Q.Z.; SONG, J.; XUE, A. A novel layer-by-layer self assembled carbon nanotube-based anode, preparation, characterization, and application in microbial fuel cell. *Electrochimica Acta*, v. 55, n. 9, p. 3041 – 3047, 2010.

- SUN, Y.; WEI, J.; LIANG, P.; HUANG, X. Microbial community analysis in biocathode microbial fuel cells packed with different materials. *AMB Express*, v. 2, n. 21., 1 - 8, 2012.
- TANG, J.; YANG, G.; WEN, J.; YU, Z.; ZHOU, S.; LIU, Z. *Bacillus thermophilum* sp. nov., isolated from a microbial fuel cell. *Archives of Microbiology*, v. 196, n. 9, p 629 - 634, 2014.
- TANG, Y.; HE, Y.; YU, P.; SUN, H.; FU, J. Effect of temperature on electricity generation of single-chamber microbial fuel cells with proton exchange membrane. *Advanced Materials Research*, v. 393 - 395, p. 1169 - 1172, 2012.
- TORRES, C.I.; KATO, M. A.; RITTMANN, B. E. Proton Transport Inside the Biofilm Limits Electrical Current Generation by Anode-Respiring Bacteria. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 100, n. 5, p. 872 - 881, 2008.
- VLYSSIDES AG, BARAMPOUTI, E.M., MAI, S. Wastewater characteristics from Greek wineries and distilleries. *Water Science and Technology*, v. 51, n. 1, p. 53 - 60, 2005.
- YOU, S. J.; ZHAO, Q. L.; ZHANG, J. N.; ZHAO, S. Q. Treatment of Domestic Wastewater with Simultaneous Electricity Generation in Microbial Fuel Cell under Continuous Operation. *Chemical And Biochemical Engineering Quarterly*, v. 20, n.4, p. 407 - 412, 2006.
- WANG, H.; JIANG, S. C.; WANG, Y.; XIAO, B. Substrate removal and electricity generation in a membrane-less microbial fuel cell for biological treatment of wastewater. *Bioresource Technology*, v. 138, p. 109 - 116, 2013.
- WANG, X.; FENG, Y. J.; LEE, H. Electricity production from beer brewery wastewater using single chamber microbial fuel cell. *Water Science Technology*, v. 57, n. 7, p. 1117 - 1121, 2008.
- WANG, X. L.; WU, C.; ZHANG, J. Q.; CHI, Q. L.; TIAN, S. S. Acclimation stage on the performance of microbial fuel cells subjected to variation in COD, temperature, and electron acceptor. *Advanced Materials Research*, v. 183-185, p. 2346 - 2350, 2011.
- WEI, J.; LIANG, P.; HUANG, X. Recent progress in electrodes for microbial fuel cells. *Bioresource Technology*. v. 102, n. 20, p. 9335 - 9344, 2011.
- WEI, L. L.; YUAN, Z. L.; CUI, M. J.; HAN, H. L.; SHEN, J. Q. Study on electricity-generation characteristic of two-chambered microbial fuel cell in continuous flow mode. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 37, n. 1, p. 1067-1073, 2013.
- WRIGHTON, K. C.; AGBO, P.; WARNECKE, F.; WEBER, K. A.; BRODIE, E. L.; DESANTIS, T. Z.; HUGENHOLTZ, P.; ANDERSEN, G. L.; COATES, J. D. A novel ecological role of the Firmicutes identified in thermophilic microbial fuel cells. *Journal of the International Society of Microbial Ecology*, v. 2, n. 11, p.1146 - 1156, 2008.
- ZHANG, F.; JACOBSON, K. S.; TORRES, P.; HE, Z. Effects of anolyte recirculation rates and catholytes on electricity generation in a litre-scale upflow microbial fuel cell. *Energy Environmental Science*, v. 3, n. 9, p. 1347 - 1352, 2010.
- ZHONG, C.; ZHANG, B.; KONG, B.; XUE, A.; NI, J. Electricity generation from molasses wastewater by an anaerobic baffled stacking microbial fuel cell. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, v. 86, n. 3, p. 406 - 413, 2011.